

Comportamento “in vitro” de uma bactéria
fitopatogênica frente a diversos antibióticos¹

JOÃO LÚCIO DE AZEVEDO², R. NELLY NEDER³ e
T. J. B. MENEZES⁴

Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

1 — Trabalho patrocinado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, recebido para publicação em 30-8-1965; 2 — Cadeira de Citologia e Genética da E. S. A. Luiz de Queiroz; 3 — Instituto Zimotécnico; 4 — estagiário do Instituto de Genética.

RESUMO

Foi estudada a resistência da bactéria fitopatogênica *Xanthomonas campestris* com relação a cinco antibióticos. Quando os antibióticos foram adicionados ao meio sólido no qual a bactéria iria se desenvolver, colônias resistentes à estreptomicina e éritromicina, apareceram até nas mais altas concentrações usadas. No caso da penicilina, aureomicina e cloranfenicol, em concentrações superiores a 200 mcg/ml, 0,3 mcg/ml e 128 mcg/ml respectivamente, não apareceram colônias resistentes. Os resultados mostraram que a penicilina foi o antibiótico menos efetivo e a aureomicina a mais efetiva em inibir o crescimento de *X. campestris*. Os resultados sugerem também que o modelo de resistência à estreptomicina e éritromicina é o de um só passo enquanto que o modelo de resistência aos três outros antibióticos ensaiados, é o de múltiplos passos.

1. INTRODUÇÃO

São numerosas as pesquisas efetuadas sobre a resistência de bactérias aos mais diversos antibióticos, e sobre o mecanismo genético dessa resistência. Tais estudos, em sua quase totalidade, referem-se a bactérias de interesse médico, devido principalmente, à larga aplicação que os antibióticos apresentam em medicina. As revisões de BRYSON e SZYBALSKI (1955), FINLAND (1956), SCHNITZER e GRUNBERG (1957) dão uma idéia da complexidade do assunto.

Em relação à bactérias de âmbito fitopatogênico, isto é, bactérias que causam doenças em vegetais, os trabalhos a esse respeito, são bem menos frequentes.

Propuzemo-nos então, a estudar o comportamento de *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson, com respeito aos seguintes antibióticos: penicilina, estreptomicina, cloranfenicol e éritromicina. Tal bactéria ataca a couve, além de outras Crucíferas, causando a doença conhecida pelo nome de "Podridão Negra das Crucíferas". Esse estudo apresenta importância prática pois o tratamento de plantas com antibióticos, vem se difundindo como prática de grande valor na agricultura, visando o combate a diversas doenças produzidas por microrganismos em vegetais.

GILLIVER (1946), ensaiou "in vitro" a ação de treze substâncias antibióticas em fungos e bactérias fitopatogêni-

cas, incluindo a *Xanthomonas campestris*. SUTTON e BELL (1954), partindo do fato que a aureomicina, inibe o crescimento da *X. campestris* em concentrações de 0,05 mcg/ml a 0,1 mcg/ml, utilizaram soluções de aureomicina em várias concentrações para o tratamento de sementes. THIRUMALACHER e outros (1956), ensaiaram "in vitro" a atividade da aureomicina, terramicina, penicilina G, dihidro-estreptomicina e cloranfenicol em trinta e duas espécies de *Xanthomonas*. Os antibióticos foram ensaiados por difusão em meio sólido nas concentrações de 20 mcg/ml para a estreptomicina, 50 mcg/ml para a penicilina e 60 mcg/ml para os outros antibióticos. Houve formação de halo de inibição nas placas semeadas com *X. campestris* para todos os antibióticos usados, exceção feita à penicilina.

LINDENFELSER, PRIDHAM e outros (1956), verificaram que *X. campestris* é inibida por 80 mcg/ml de duramicina e, que a concentração bactericida do antibiótico para essa bactéria foi de mais de 100 mcg/ml.

MEHTA e outros (1959), fizeram estudos com trinta espécies de bactérias fitopatogênicas em relação à vancomicina. Para *X. campestris*, a concentração inibitória foi de 0,5 mcg/ml.

Um de nós (AZEVEDO, 1961) iniciou investigações com *X. campestris* estudando a ação da estreptomicina, penicilina e aureomicina sobre a referida bactéria. O presente trabalho é uma continuação dessas investigações iniciais.

2. MATERIAL E MÉTODO

Usamos uma linhagem de *X. campestris* isolada de plantação de couves existentes na Secção de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", em Piracicaba.

Os meios usados foram líquido nutriente e ágar nutriente, ambos da Difco.

Os antibióticos utilizados foram: Sulfato de Dihidro — estreptomicina da Merck Sharp & Dohme S.A., penicilina G potássica cristalina da Fontoura Wyeth S.A., cloridrato de clortetracilina cristalina da Cyanamid Química do Brasil S.A., cloromicetina da Park Davis & Co., e éritromicina (Iloticina) da Eli Lilly and Company of Brasil. Tais antibióticos, para maior facilidade serão designados por estreptomicina, penicilina, aureomicina, cloranfenicol e éritromicina respectivamente. As soluções de antibióticos foram preparadas,

momentos antes de serem utilizadas, por dissolução de quantidades apropriadas dos mesmos, no solvente adequado.

Xanthomonas campestris, foi semeada em líquido nutriente, incubada por 48 a 72 horas a 28°C e semeada em diluições apropriadas, em placas de Petri contendo ágar nutriente mais antibiótico.

Para a estreptomocina foram usadas as concentrações de: 1; 2; 3; 5; 6; 10; 20 e 40 mcg/ml. Para a penicilina: 10; 20; 30; 50; 100; 200; 500 e 1.000 mcg/ml. Para a aureomicina: 0,025; 0,05; 0,075; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 mcg/ml, para o cloranfenicol: 2; 4; 8; 16; 32; 64; 128 e 256 mcg/ml e para a éritromicina: 2; 4; 8; 16; 32; 64; 128 e 256 mcg/ml.

O controle foi feito por plaqueamento da mesma cultura em meio sólido sem antibiótico.

Semeou-se sempre 0,1 ml da cultura, incubando-se de cinco a seis dias, a 28°C. Após esse período, efetuou-se a contagem das colônias.

Por comparação entre controle e tratamentos tirou-se a porcentagem de sobreviventes nas diversas concentrações de antibióticos.

3. RESULTADOS

3.1 Resistência das bactérias a antibióticos adicionados ao meio sólido.

Os números de sobreviventes nas diversas concentrações de estreptomocina, encontram-se no quadro 1. Colocando-se num gráfico, a porcentagem de sobreviventes em relação às concentrações de estreptomocina, vamos obter uma curva que vai mostrar como se processa a queda da viabilidade com o aumento da concentração do antibiótico (Figura 1). A linha pontilhada nesse gráfico, indica como se processaria teoricamente a queda de viabilidade, se o material fosse uniforme com relação à resistência à estreptomocina.

Os números de sobreviventes em porcentagem, nas diversas concentrações de penicilina usadas, estão no quadro 2. Num gráfico, colocando-se concentração de penicilina, contra porcentagem de sobreviventes, vamos obter a curva característica para a penicilina, (Figura 2). A linha pontilhada indica como seria a curva teórica se o material fosse completamente uniforme com relação à resistência à penicilina.

As porcentagens de sobreviventes nas diversas concentrações de aureomicina, usadas, encontram-se no quadro 3. A figura 3 mostra a curva de resistência da bactéria ao antibiótico. A linha pontilhada indica como continuaria teóricamente a curva, se a população fôsse uniforme com relação à resistência à aureomicina.

As porcentagens de sobreviventes nas diversas concentrações de cloranfenicol usadas, encontram-se no quadro 4. A figura 4 mostra a curva de resistência da bactéria ao antibiótico. A linha pontilhada indica como continuaria a curva, se a população fôsse uniforme com relação à resistência ao cloranfenicol.

As porcentagens de sobreviventes nas diversas concentrações de éritromicina usadas, encontram-se no quadro 5. A figura 5 mostra a curva de resistência da bactéria à éritromicina. A linha pontilhada indica como continuaria teóricamente a curva se a população fôsse uniforme com relação á resistência ao antibiótico em questão.

4.2. Comparação entre as cinco curvas de sobrevivência obtidas.

As curvas obtidas em relação à sobrevivência aos antibióticos utilizados, adaptadas em uma mesma escala, apresenta, o aspecto representado na Figura 6.

4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1 Comportamento da bactéria em relação a antibióticos adicionados ao meio sólido.

4.1.1 Estreptomina

Observando-se os resultados apresentados no quadro 1, e a figura 1, verifica-se que o número de colônias formadas decresce com o aumento de concentração da estreptomina. A curva de sobrevivência pode ser dividida em quatro partes: a primeira (até cerca de 1 mcg/ml), mostra que a viabilidade não decresce ou, cai muito pouco. A segunda parte da curva (2 a 7 mcg/ml) mostra um grande decréscimo do número de sobreviventes com o aumento da concentração do antibiótico. A terceira parte da curva, mostra que a viabilidade continua a cair, embora menos acentuadamente, para finalmente, a última parte da curva, tornar-se paralela ao eixo horizontal do gráfico, mostrando que em tôdas concentrações usadas aparecem sobreviventes.

Se o material em estudo, no caso a população de bactérias tratadas com o antibiótico, fôsse completamente uniforme com relação à sua resistência à estreptomina, encontraríamos apenas as duas primeiras partes da curva, isto é, as bactérias quase não sofreriam ação de doses mínimas do antibiótico e em doses maiores a queda de viabilidade seria logarítmica, seguindo a linha pontilhada teórica, indicada na Figura 1. A diferença entre essa linha teórica e a realmente encontrada (terceira parte da curva), segundo DEMEREC (1950) mostra que existem na população, indivíduos mais resistentes à estreptomina do que a maioria da população. A quarta parte da curva representa um pequeno número de bactérias que são inteiramente resistentes à estreptomina.

Mutantes resistentes à estreptomina são encontrados então, após uma passagem de bactéria no antibiótico, segundo o modelo denominado por DEMEREC (1948) de "um só passo" ("one-step"). O comportamento da bactéria em relação à resistência à estreptomina, pode ser explicada pela hipótese de que existem gens de diferentes potencialidades determinando tal resistência. Assim, se a mutação ocorrer em um gen que determina resistência a altas concentrações de estreptomina, a bactéria torna-se altamente resistente ao antibiótico, em uma só passagem.

DEMEREC (1950) já estudou o curva de sobrevivência da *Escherichia coli* em meio sólido com estreptomina. Pelos nossos resultados verificamos que o comportamento de *Xanthomonas campestris* é bastante semelhante ao da *Escherichia coli*. QUADLING (1960), verificou que em *Xanthomonas phaseoli*, linhagem XP8, semeada em meio sólido, mais diversas concentrações de estreptomina, a maioria das bactérias são mortas em concentrações entre 2 e 8 mcg/ml. A *Xanthomonas campestris* mostra então um comportamento quase idêntico ao da *Xanthomonas phaseoli* com relação à resistência à droga. ▲

4.1.2 Penicilina

O quadro 2 e a figura 2 indicam que o aumento da concentração de penicilina determina também uma diminuição no número de sobreviventes. Na figura 2, verifica-se que a curva tem duas partes distintas: de cerca de 10 a 50 mcg/ml, mostra acentuada queda, que corresponde à grande diminuição na porcentagem de sobreviventes; de 50 a 200 mcg/

ml, a diminuição é menos acentuada. Depois de 200 mcg/ml não aparecem mais sobreviventes. A ausência da primeira fase da curva, encontrada no caso da estreptomomicina, isto é, da fase em que o número de sobreviventes seria praticamente igual ao número de bactérias inoculadas, muito provavelmente é devido ao fato de não terem sido utilizadas concentrações intermediárias de penicilina, entre 0 e 10 mcg/ml em nossos experimentos. A diferença entre a linha pontilhada teórica e realmente encontrada, indica que também para a penicilina, existem na população indivíduos mais resistentes do que a maioria da população. A parte final da curva mostra que com pouco mais de 200 mcg/ml de penicilina adicionada ao meio sólido, não aparecem bactérias resistentes. Tal fato concorda com os resultados de DEMEREC (1945 e 1948) referindo-se à ação de penicilina sobre *Staphylococcus aureus*. Tal autor, admitiu a hipótese de que, provavelmente vários gens estariam envolvidos no processo que determina a resistência da bactéria à penicilina. Ao contrário do que foi explicado para a estreptomomicina, tais gens seriam iguais em sua potência. Para visualizar melhor essa interpretação poder-se-ia supor que cada gen mutado aumentasse a resistência da bactéria à droga em duas unidades. A mutação de um gen, determinaria então uma resistência de 2 unidades; um segundo gen mutado, aumentaria para quatro essa resistência, um terceiro gen que mutasse, aumentaria para 8 unidades a resistência da célula, e assim por diante, sempre em progressão geométrica. A probabilidade de duas mutações ocorrerem simultaneamente, seria tão pequena que poderia ser considerada como nula e devido a isso, uma resistência a altas doses de penicilina não poderia ser obtida num só passo. A resistência para esse antibiótico, como para a maioria dos antibióticos conhecidos, segue então o modelo denominado "múltiplos passos" ("multiple-step").

4.1.3 Aureomicina

O quadro 3 e a figura 3 indicam, como nos dois casos anteriores, que o número de sobreviventes diminui, com o aumento da concentração do antibiótico. A curva representada na figura 3, apresenta 3 partes: de 0 a 0,025 mcg/ml representa pequena queda da viabilidade. De 0,025 mcg/ml até cerca de 0,1 mcg/ml, mostra que a queda é bastante acentuada e, de 0,1 mcg/ml em diante, mostra que o decréscimo na viabilidade é menos acentuado que o anterior. Como acontece para os dois outros antibióticos, a diferença entre a linha pon-

tilhada e a realmente encontrada, indica que na população existem indivíduos mais resistentes à droga do que a maioria da população.

Como no caso da penicilina, não existe a parte final da curva paralela ao eixo das abcissas mas, ela encontra tal eixo mostrando que após certa concentração de aureomicina, não se podem obter mutantes "em um só passo", pois a resistência à aureomicina, funciona segundo o modelo de "multiplos passos" já citado para o caso da penicilina, como indica a revisão de BRAUN (1953).

4.1.4 Cloranfenicol

O quadro 4 e a figura 4 indicam que o número de sobreviventes diminui com o aumento da concentração do antibiótico. A curva apresenta 3 partes: de 0 a 2 mcg/ml há pequena redução na porcentagem de sobreviventes, de 2 a 16 mcg/ml a 128 mcg/ml queda menos acentuada. Com 256 mcg/ml não são mais encontrados sobreviventes. Como com os outros antibióticos, a diferença entre a linha pontilhada e a realmente encontrada indica que na população existem indivíduos mais resistentes à droga do que a maioria da população. Também aqui não existe a parte final da curva paralela ao eixo horizontal, mostrando que após certa concentração de cloranfenicol não se podem obter mutantes em "um só passo" (BRAUN, 1953).

4.1.5 Éritromicina

O quadro 5 e a figura 5 indicam que o número de sobreviventes cai com o aumento da concentração da droga. A curva de sobrevivência pode ser dividida em 3 partes: A primeira (até cerca de 20 mcg/ml) mostra grande decréscimo no número de sobreviventes. A 2.^a parte da curva (até cerca de 40 mcg/ml) mostra que a % de sobreviventes continua a cair, mas menos acentuadamente e a terceira parte da curva, mostra que em todas as concentrações usadas, aparecem sobreviventes. A linha pontilhada,, da mesma forma que nos casos anteriores, indica como se processaria a queda da viabilidade se a população fôsse uniforme com relação à resistência ao antibiótico. A ausência da parte inicial da curva com pequena queda de viabilidade, pode ser explicada como para o caso da penicilina.

Mutantes resistentes à éritromicina são obtidos então em "um só passo", indicando que o modelo de resistência da bac-

téria em relação ao antibiótico é idêntico ao descrito para a estreptomicina (BRAUN, 1953).

4.2. Comparação entre as curvas de sobrevivência

Na figura 6 estão as curvas de sobrevivência obtidas, para os cinco antibióticos usados, adaptados em uma mesma escala. É patente que a aureomicina, dentre os antibióticos ensaiados, é o mais efetivo contra a *Xanthomonas campestris*. Segue-se a estreptomicina que também causa grande decréscimo de sobreviventes em pequenas concentrações mas, que permite o aparecimento de mutantes resistentes o que poderia se constituir num problema se tal antibiótico fôsse empregado isoladamente no combate à bactéria. Com efeito bem menos acentuado sobre a queda da porcentagem de sobreviventes, segue-se por ordem a éritromicina, cloranfenicol e por último, a penicilina.

5. CONCLUSÕES

Em relação a antibióticos adicionados ao meio sólido, *Xanthomonas campestris* comportou-se diferentemente, de acordo com a droga usada. Para a estreptomicina, colônias resistentes apareceram em 40 mcg/ml, ou seja, na mais alta concentração usada. Para a penicilina, não apareceram resistentes em doses maiores que 200 mcg/ml. Para a aureomicina, em doses maiores que 0,3 mcg/ml não apareceram colônias. Para o cloranfenicol em doses maiores que 128 mcg/ml não apareceram mais colônias e para a éritromicina, apareceram colônias até 256 mcg/ml, e que foi a maior concentração usada do referido antibiótico. Conclui-se, portanto, que a bactéria estudada comportou-se da mesma maneira que a grande maioria de outras bactérias no seu mecanismo de resistência aos cinco antibióticos, isto é, seguiu os clássicos modelos de "múltiplos passos" para a aureomicina, penicilina e cloranfenicol, e de "um só passo" para adquirir resistência à estreptomicina e éritromicina. Por comparação entre as curvas de sobrevivência no meio sólido, conclui-se que a penicilina é o antibiótico que mais fraca ação teve sobre a bactéria, havendo necessidade de altas concentrações para impedir o aparecimento de formas resistentes. A aureomicina por sua vez, em concentrações mínimas, já causou inibição completa da bactéria em meio sólido.

6. SUMMARY

The present paper deals with study of the resistance against five antibiotics in a phytopathogenic bacterium Xanthomonas campestris (Pammel) Dowson.

When the antibiotics were added to the solid medium in which the bacteria were grown, the colonies resistant to the streptomycin and erythromycin appeared even in the highest concentration used; as to the penicillin, aureomycin and cloranfenicol when in concentrations higher than 200 mcg/ml, 0,3 mcg/ml and 128 mcg/ml respectively, resistant colonies did not appear. So, the results show that the penicillin was the least efficient antibiotic and aureomycin the most effective to Xanthomonas campestris.

7. BIBLIOGRAFIA CITADA

- AZEVEDO, J. L. de — 1961 Resistência e mutação de *X. campestris* (Pammel) Dowson, em relação a alguns antibióticos. Tese de doutoramento — E. S. A. "Luiz de Queiroz", Piracicaba — São Paulo — Brasil — 48 pp.
- BRAUN, W. — 1953 — Bacterial Genetics. W. B. Saunders Co., Philadelphia.
- BRYSON, V. e W. SZYBALSKY — 1955 — Microbial drug resistance. *Advanc. Genet.*, 7: 1-47.
- DEMEREK, M. — 1945 — Production of *Staphylococcus* strains resistant to various concentrations of penicillin. *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, 31: 16-24.
- 1948 — Origin of bacterial resistance to antibiotics. *J. Bact.*, 56: 63-74.
- 1950 — Genetic mechanism controlling bacterial resistance to streptomycin. *Trans. N.Y. Acad. Sci.*, 12: 186-188.
- FINLAND, M. — 1956 — Emergence of resistant strains in chronic intake of antibiotics. A Review First International Conference on antibiotics in Agriculture, *Nat. Acad. Sci., Nat. Res. Coun. publ.* 397: 233-258.
- GILLIVER, K. — 1946 — The inhibitory action of antibiotics on plant pathogenic Bacteria and Fungi. *Ann Bot. Lond.* 10: 271-282.
- LINDENFELSER, L. A., T. G. PRIDHAM, O. L. SHTOWELL e F. H. STODOLA — 1958 — Antibiotics against plant disease — IV — Activity of duramycin against selected Microorganisms. *Antibiotics ann.* 1957-58. 241-247.
- MEHTA, P. P., D. GOTTLIEB e D. POWELL — 1959 — Vancomycin, a potential agent for plant disease prevention, *Phytopathology*, 49: 177-183.

- QUADLING, C. — 1960 — Mutation conferring streptomycin resistance in *Xanthomonas phaseoli*. Can. J. Microbiol. 6: 387-396.
- SCHNITZER, R. J. e E. GRUMBERG — 1957 — Drug resistance of microorganisms. Academic Press, Inc., New York.
- SUTTON, M. D. e W. BELL — 1954 — The use of aureomycin as a treatment of swede seed for the control of Black Rot (*Xanthomonas campestris*), Plant Dis. Repr. 38: 547-552.
- THIRUMALACHER, M. J., M. K. PATEL, N. B. KULKARNI e G. H. DHAND — 1956 — Effects in vitro of some antibiotics on thirty two *Xanthomonas* species courring in India. Phytopatology, 46: 486-488.

QUADRO 1

Porcentagem de sobreviventes à estreptomicina, adicionada ao meio sólido. (Resultados de 3 experimentos).

Conc. de estrep. (mgc/ml)	Diluição*	N.º médio de col/placa+	N.º sobre- vivos	% sobrev.	% log. de sobrev.	% log. média
0	10 ⁻⁹	50	5,0 x 10 ¹¹	100,0	2,00	2,00
	10 ⁻¹⁰	16	1,6 x 10 ¹²	100,0	2,00	
	10 ⁻⁷	7	7,0 x 10 ⁸	100,0	2,00	
1	10 ⁻⁸	400	4,0 x 10 ¹¹	80,0	1,90	1,93
	10 ⁻¹⁰	40	4,0 x 10 ¹²	100,0	2,00	
	10 ⁻⁷	5,3	5,3 x 10 ⁸	75,7	1,87	
2	10 ⁻⁸	140	1,4 x 10 ¹¹	28,0	1,45	1,21
	10 ⁻⁸	64	6,4 x 10 ¹⁰	4,0	0,60	
	10 ⁻⁶	26	2,6 x 10 ⁸	37,1	1,57	
3	10 ⁻⁶	400	4,0 x 10 ⁹	0,8	1,30	0,01
	10 ⁻⁷	208	2,1 x 10 ¹⁰	1,3	0,11	
	10 ⁻⁴	70	7,0 x 10 ⁶	1,0	0,00	
5	10 ⁻⁴	106	1,0 x 10 ⁷	2,0 x 10 ⁻³	3,30	3,16
	10 ⁻⁶	8	8,0 x 10 ⁷	5,0 x 10 ⁻³	3,70	
	10 ⁻²	21	2,1 x 10 ³	3,0 x 10 ⁻⁴	4,48	
6	10 ⁻²	22	2,2 x 10 ⁴	4,4 x 10 ⁻⁶	6,64	5,44
	10 ⁻⁴	8	8,0 x 10 ⁵	5,0 x 10 ⁻⁵	5,70	
	s/diluir	80	8,0 x 10 ²	1,0 x 10 ⁻⁴	4,00	
10	s/diluir	62	6,2 x 10 ²	1,2 x 10 ⁻⁸	8,08	7,15
	s/diluir	23	2,3 x 10 ²	1,4 x 10 ⁻⁸	6,15	
	s/diluir	11	1,1 x 10 ²	1,7 x 10 ⁻⁵	5,23	
20	s/diluir	1	1,0 x 10 ¹	2,0 x 10 ⁻⁹	9,30	9,98
	s/diluir	5	5,0 x 10 ¹	3,0 x 10 ⁻⁹	6,48	
	s/diluir	0,1	1	1,4 x 10 ⁻⁷	7,15	
40	s/diluir	5	5,0 x 10 ¹	1,0 x 10 ⁻⁸	8,00	8,24
	s/diluir	48	4,8 x 10 ²	3,0 x 10 ⁻⁸	8,48	
	s/diluir	—	—	—	—	

* — 0,1 ml semeados

+ — média de 3 placas pelo menos

Porcentagem de sobreviventes à penicilina, adicionada ao meio sólido. (Resultados de 3 experimentos).

Conc. de penicilina (mcg/ml)	Diluição*	N.º médio de col/placa+	N.º de sobreviv.	% de sobreviv.	% log. de sobreviv.	% log. média
0	10 ⁻⁶	223	2,2 x 10 ⁹	100,0	2,00	2,00
	10 ⁻⁶	150	1,5 x 10 ⁹	100,0	2,00	
	10 ⁻⁶	60,8	6,1 x 10 ⁸	100,0	2,00	
10	10 ⁻⁶	16,4	1,6 x 10 ⁸	7,4	0,87	0,75
	10 ⁻⁴	735	7,4 x 10 ⁷	4,9	0,69	
	10 ⁻⁴	238	3,0 x 10 ⁷	4,9	0,69	
20	10 ⁻⁴	68	6,8 x 10 ⁶	3,1 x 10 ⁻¹	1,49	1,47
	10 ⁻⁴	50	5,0 x 10 ⁶	3,3 x 10 ⁻¹	1,52	
	10 ⁻⁴	1600	1,6 x 10 ⁶	2,6 x 10 ⁻¹	1,41	
30	10 ⁻⁴	3	3,0 x 10 ⁵	1,4 x 10 ⁻²	2,15	2,53
	10 ⁻⁴	5	5,0 x 10 ⁵	3,3 x 10 ⁻²	2,52	
	10 ⁻²	128	1,3 x 10 ⁵	2,1 x 10 ⁻²	2,32	
50	s/diluir	77	7,7 x 10 ²	3,5 x 10 ⁻⁵	5,54	3,02
	10 ⁻²	39	3,9 x 10 ⁴	2,6 x 10 ⁻²	3,41	
	10 ⁻²	79,3	7,9 x 10 ⁴	1,3 x 10 ⁻²	2,11	
100	10 ⁻²	17	1,7 x 10 ⁴	7,7 x 10 ⁻⁴	4,83	4,44
	10 ⁻²	0,6	6,0 x 10 ²	1,0 x 10 ⁻⁴	4,00	
200	s/diluir	230	2,6 x 10 ³	1,2 x 10 ⁻⁴	4,08	4,15
	s/diluir	250	2,5 x 10 ³	1,7 x 10 ⁻⁴	4,23	
500	s/diluir	0	0	0	Infinito	Infinito
	s/diluir	0	0	0	Infinito	
	s/diluir	0	0	0	Infinito	
1000	s/diluir	0	0	0	Infinito	Infinito
	s/diluir	0	0	0	Infinito	
	s/diluir	0	0	0	Infinito	

* — 0,1 ml semeados

+ — média de 3 placas pelo menos

QUADRO 3

Porcentagem de sobreviventes à aureomicina, adicionada ao meio sólido. (Resultados de 3 experimentos).

Conc. de estrep. Conc. de Aurem.	Diluição*	N.º médio de col/placa†	N.º sobre- vivos	% sobrev.	% log. de sobrev.	% log. média
0	10-6	880	8,8 x 10 ⁹	100,0	2,00	2,00
	10-7	26	2,6 x 10 ⁹	100,0	2,00	
	10-6	66,6	6,6 x 10 ⁸	100,0	2,00	
0,025	10-6	800	8,0 x 10 ⁹	90,9	1,96	1,94
	10-6	208	2,1 x 10 ⁹	80,7	1,91	
	10-6	60	6,0 x 10 ⁸	90,9	1,96	
0,050	10-6	500	5,0 x 10 ⁹	56,8	1,75	1,47
	10-6	90	9,0 x 10 ⁸	34,6	1,54	
	10-6	8,5	8,5 x 10 ⁷	12,9	1,11	
0,075	10-6	2	2,0 x 10 ⁷	2,3 x 10-1	1,36	0,29
	10-6	11	1,1 x 10 ⁸	4,2	0,62	
	10-6	5	5,0 x 10 ⁷	7,6	0,88	
0,1	10-4	26	2,6 x 10 ⁶	2,2 x 10-2	2,34	2,58
	10-4	25	2,5 x 10 ⁶	9,6 x 10-2	2,98	
	10-4	1,8	1,8 x 10 ⁵	2,7 x 10-2	2,43	
0,2	10-2	23	2,3 x 10 ⁴	2,3 x 10-4	4,36	5,67
	s/diluir	50	5,0 x 10 ²	1,9 x 10-5	5,28	
	s/diluir	16	1,6 x 10 ²	2,4 x 10-5	5,38	
0,3	s/diluir	3	3,0 x 10 ¹	3,4 x 10-7	7,53	6,04
	s/diluir	9	9,0 x 10 ¹	3,5 x 10-6	6,54	
	s/diluir	0,75	7,5	1,1 x 10-6	6,04	
0,4	s/diluir	0	0	0	Infinito	Infinito
	s/diluir	0	0	0	Infinito	
	s/diluir	0	0	0	Infinito	
0,5	s/diluir	0	0	0	Infinito	Infinito
	s/diluir	0	0	0	Infinito	
	s/diluir	0	0	0	Infinito	

* — 0,1 ml semeados

† — média de 3 placas pelo menos

Porcentagem de sobreviventes ao cloranfenicol, adicionado ao meio sólido. (Resultados de 3 experimentos).

Conc. de cloranf. (mgc/ml)	Diluição*	N.º médio de col/placa+	N.º sobre- vivos	% sobrev.	% log. de sobrev.	% log. média
0	10-6	23,7	2,3 x 10 ⁸	100,0	2,00	2,00
	10-6	96,5	9,6 x 10 ⁸	100,0	2,00	
	10-6	133,5	1,3 x 10 ⁹	100,0	2,00	
2	10-4	1090	1,1 x 10 ⁸	47,8	1,68	1,72
	10-6	44,3	4,4 x 10 ⁸	45,8	1,66	
	10-6	88,3	8,8 x 10 ⁸	66,1	1,82	
4	10-4	450	4,5 x 10 ⁷	19,5	1,29	1,43
	10-6	29,6	2,9 x 10 ⁸	30,2	1,48	
	10-6	38,6	3,8 x 10 ⁸	33,6	1,53	
8	10-4	280	2,8 x 10 ⁷	12,2	1,08	0,84
	10-4	270	2,7 x 10 ⁷	2,8	0,45	
	10-4	1272	1,3 x 10 ⁸	10,0	1,00	
16	s/diluir	139,6	1,4 x 10 ³	6,1 x 10-4	4,78	2,03
	10-2	753	7,5 x 10 ⁵	7,5 x 10-2	2,88	
	10-2	344	3,4 x 10 ⁵	2,7 x 10-2	2,43	
32	10-2	46	4,6 x 10 ²	2,0 x 10-4	4,30	4,74
	s/diluir	240	2,4 x 10 ⁵	2,5 x 10-2	2,40	
	s/diluir	33,6	3,4 x 10 ⁶	1,7 x 10-5	5,23	
64	s/diluir	51	5,1 x 10 ²	2,2 x 10-4	4,34	5,75
	s/diluir	760	7,6 x 10 ³	7,9 x 10-4	4,90	
	s/diluir	1,3	1,3 x 10 ¹	1,3 x 10-6	6,00	
128	s/diluir	0,2	2	8,7 x 10-7	7,94	7,94
	s/diluir	1	10	1,0 x 10-6	6,00	
	s/diluir	1	10	7,7 x 10-7	7,89	
256	s/diluir	0	0	0	— infinito	— infinito
	s/diluir	0	0	0	— infinito	
	s/diluir	0	0	0	— infinito	

* — 0,1 ml semeados

+ — média de 3 placas pelo menos

QUADRO 5

Porcentagem de sobreviventes à éritromicina, adicionada ao meio sólido. (Resultados de 3 experimentos).

Conc. de eritr. (mgc/ml)	Diluição*	N.º médio de col/placa†	N.º sobre- vivos	% sobrev.	% log. de sobrev.	% log. média
0	10-4	130	1,3 x 107	100,0	2,00	2,00
	10-6	74	7,4 x 108	100,0	2,00	
	10-6	27	2,7 x 108	100,0	2,00	
2	10-4	74	7,4 x 106	56,0	1,75	1,11
	10-4	421	4,2 x 107	5,5	0,74	
	10-4	190	1,9 x 107	7,0	0,84	
4	10-4	38	3,8 x 106	29,0	1,46	0,71
	10-4	132	1,3 x 107	1,7	0,23	
	10-4	77	7,7 x 106	2,8	0,45	
8	10-4	13	1,3 x 106	10,0	1,00	0,52
	10-4	167	1,6 x 107	2,1	0,32	
	10-4	46	4,6 x 106	1,7	0,23	
16	s/diluir	35	3,5 x 102	2,6 x 10-4	4,41	3,91
	10-2	182	1,8 x 105	2,4 x 10-2	2,38	
	10-2	230	2,3 x 105	8,5 x 10-2	2,93	
32	s/diluir	11	1,1 x 102	8,4 x 10-4	4,92	5,87
	s/diluir	11	1,1 x 102	1,4 x 10-5	5,15	
	s/diluir	9	9,0 x 101	3,3 x 10-5	5,52	
64	s/diluir	0,33	3,3	2,5 x 10-5	5,40	5,29
	s/diluir	12	1,2 x 102	1,6 x 10-5	5,20	
	s/diluir	5,3	53	1,9 x 10-5	5,28	
128	s/diluir	2,1	21	1,6 x 10-4	4,20	5,47
	s/diluir	1,5	15	5,5 x 10-6	6,74	
256	s/diluir	0,7	7	5,4 x 10-5	5,73	5,45
	s/diluir	4	40	1,5 x 10-5	5,17	

* — 0,1 ml semeados

† — média de 3 placas pelo menos

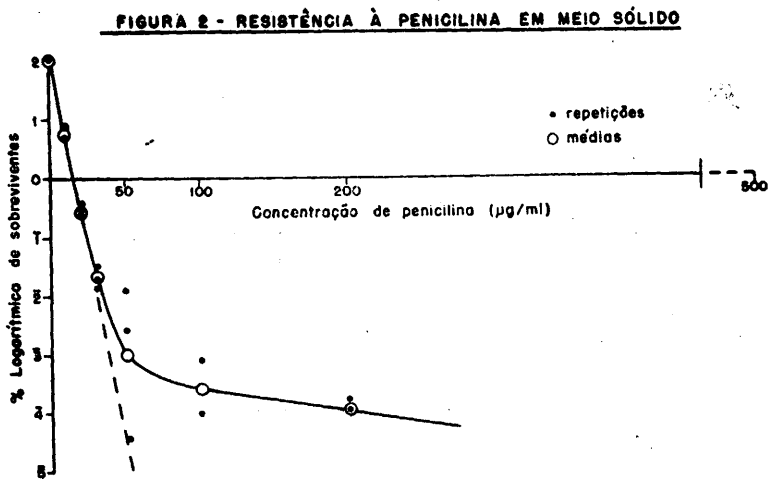
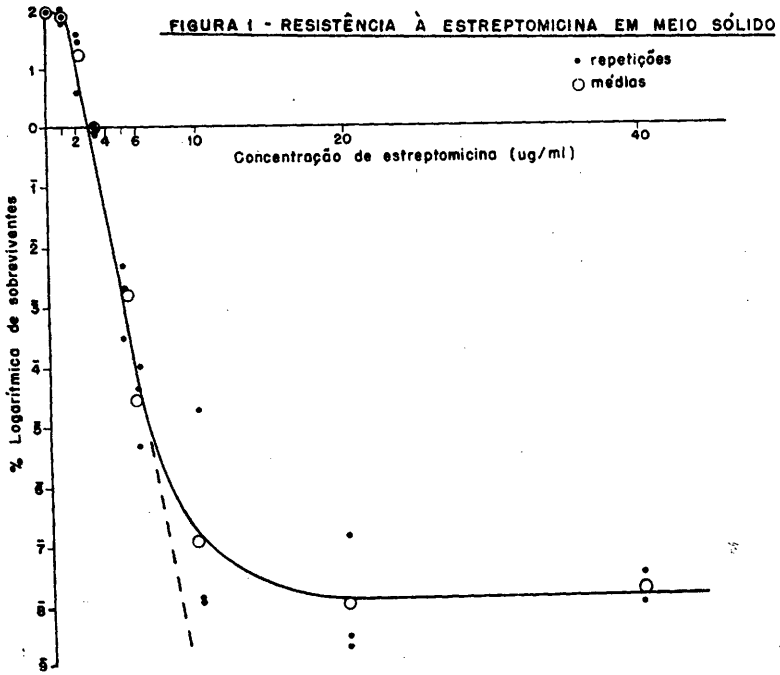


FIGURA 3 - RESISTÊNCIA À AUREOMICINA EM MEIO SÓLIDO

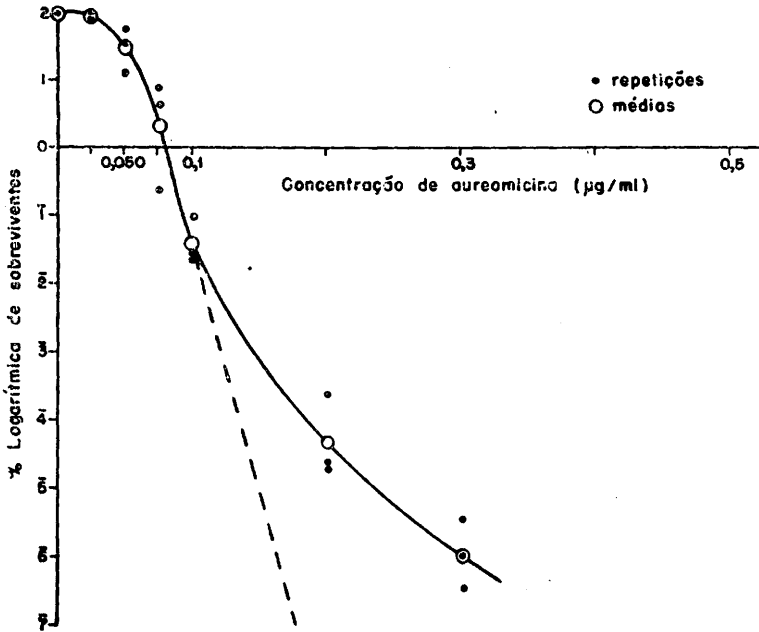


FIGURA 4 - RESISTÊNCIA AO CLORANFENICOL EM MEIO SÓLIDO

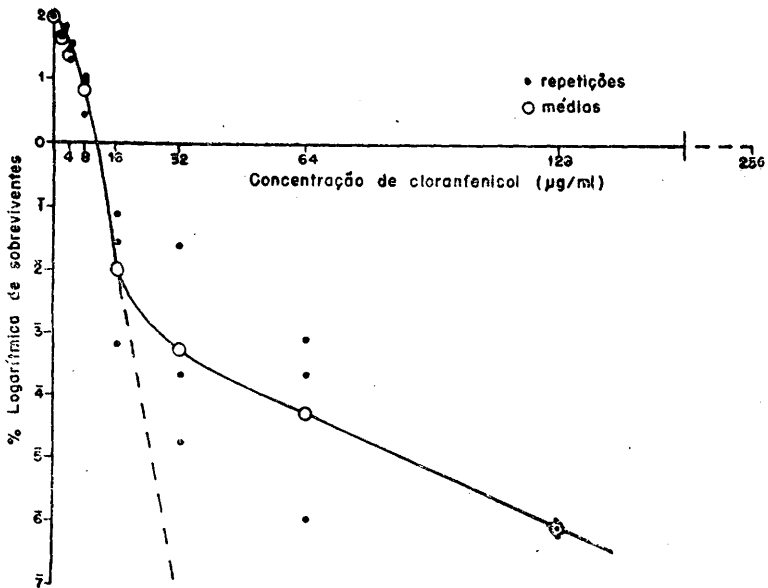


FIGURA 5 - RESISTÊNCIA À ÉRITROMICINA EM MEIO SÓLIDO

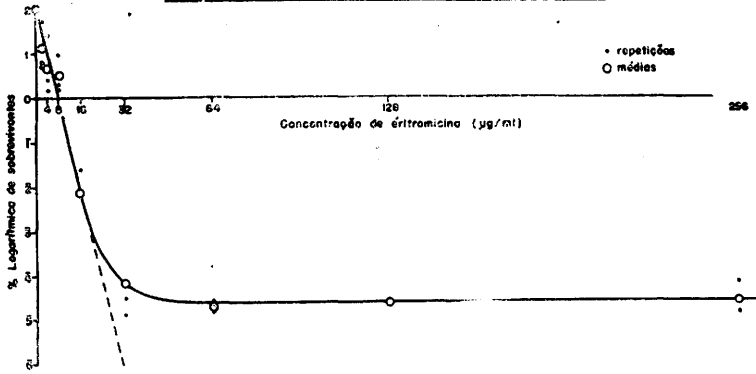


FIGURA 6 - COMPARAÇÃO ENTRE AS CURVAS DE SOBREVIVÊNCIA OBTIDAS

