

CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS DOS GÊNEROS MIMA E HERELLEA (Tribo Mimeae, DeBord, 1942)

ALTAIR A. ZEBRAL * e **ERNESTO HOFER ***

Iustituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Guanabara

Ao estudar bacteriológicamente alguns casos de conjuntivites e vaginites, DeBord, em 1939, isolou bactérias Gram negativas com características peculiares, permitindo posteriormente, em 1942, criar a tribo *Mimeae* com os gêneros *Mima*, *Herellea* e *Colloides*, sendo este último enquadrado atualmente no Grupo *Citrobacter*, da família *Enterobacteriaceae*. O gênero *Mima* compreendia a espécie *polymorpha* com a variação *oxidans* e *Herellea* a espécie *vaginicola*.

Os têrmos *Mima* e *Herellea* têm sido contestados por inúmeros autores (Pickett e Manclark, 1965; Baumann e col., 1968a; Leduc e col., 1969) apesar do seu uso freqüente na literatura científica. Outras designações são usadas; *Moraxella* (Lwoff, 1939), *Achromobacter* (Brisou, 1953), *Acinetobacter* (Brisou e Prèvot, 1954); *Diplococcus* Lingelsheim, 1908); *Bacterium* (Schaub e Hauber, 1948); *Cytophaga* (Lautrop, 1961); *Neisseria* (Lemoigne e col., 1962); *B5W* (Stuart e col., 1949).

O número de trabalhos sobre a chamada tribo *Mimeae*, desde o ano de 1939, tem aumentado progressivamente na literatura mundial, e, apesar disso, muito pouco se sabe sobre êstes microrganismos que parecem estar amplamente distribuídos na superfície da terra, com isolamentos freqüentes a partir de materiais humanos, nas mais variadas

1 Recebido para publicação a 16 de outubro de 1970.

* Departamento de Microbiologia e Imunologia, Laboratório de Bacteriologia.

áreas geográficas: **Andureau** (1940), na França; **Brooke & Markus** (1951), na Dinamarca; **DeBord** (1939), nos E.U.A.; **Travassos** (1960) e **Vernin-Ciconelli** (1968) no Brasil; **Roby** (1954) no Vietnan; **Prakash & col.** (1963) na Índia; **Liu-Kuei-Chih & col.**, (1966) na China Continental; **Lothe & Griffin**, (1965) na Uganda.

Muitos pesquisadores já assinalaram o isolamento desses microrganismos a partir de: solo, **Piechaud & col.** (1951); **Lemoigne & col.** (1952); **Casellas** (1968); animais, **Ellis** (1961); água de rio **Kenner & Kobler** (1956); alimentos derivados do leite, **Koburger** (1964); alimentos frescos, pasteurizados, pré-cozidos e congelados, **Snodgrass & col.** (1967).

Ultimamente, as bactérias *Mima* e *Herellea* têm sido isoladas com relativa freqüência de processos infecciosos, estando relacionadas como agentes etiológicos de: meningites, **Olafsson** e col. (1958), **Irving & Herrick** (1967), **DeBord** (1948); septicemias, **Faust & Hood** (1949), **Pedrinazzi & Stangalini** (1968); osteomielites, **Brodies & Anderson** (1963); pneumonia, **Glick & col.** (1959); infecção brônquica, **Henriksen** (1951); lesões cardio-vasculares, **Minzter** (1956); **King & col.** (1963); infecções genito-urinárias, **DeBord** (1939), **Svihus & col.** (1961), **Travassos** (1960), **Vernin & Ciconelli** (1968), **Inclan & col.** (1965), **Gilardi** (1968) **Irving & Herrick** (1967), **Bret & Durieu** (1961). Outros tipos

TABELA I

Amostras de *Mima* e *Herellea* isoladas por **Irving & Herrick** (1967)

Fonte	" <i>Mima polymorpha</i> "	<i>Herellea vaginicola</i>	Total
Escarro	18	41	59
Urina	9	34	43
Sangue	22	2	24
Pele e feridas	9	9	18
Ginecológico	4	6	10
Nariz e garganta	2	7	9
Outros	5	7	12
Total	69	106	175

TABELA IIAmostra de *Mima* e *Herellea* isoladas por **Gilardi** (1968)

F o n t e	N.º de amostras
Feridas	59
Urina	48
Escarro	14
Úlcera diabética	7
Abcessos	6
Garganta	3
Traquéia	3
Osteomielite	3
Uretra	2
Outros	22
T o t a l	167

de infecção também foram citados. A tabela I (**Irving & Herrick**, 1967) e a Tabela II (**Gilardi**, 1968) mostram várias fontes de isolamento de material de origem humana.

Em nosso meio são raros os trabalhos que relatam o isolamento destes microrganismos, destacando-se, inicialmente, **Travassos** (1960) que isolou 5 amostras, a partir de casos de meningite, infecção pilocutânea, pseudo-gonorréia e infecção urinária; **Vernin & Ciconelli** (1968), 4 amostras de casos de pseudo-gonorréia, urina e hemocultura e, **Casellas** (1968), obteve 24 amostras de solo, que foram classificados como pertencentes ao grugo *Lwoff-glycidolítica* (**Pièchaud & Second**, 1956).

No presente trabalho estudam-se as características morfológicas e bioquímicas de 19 amostras, sendo 17 oriundas de material clínico humano e 2 de água de esgôto, além da sensibilidade aos antibióticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais clínicos humanos foram provenientes de ambulatórios e hospitais e, as amostras de água de esgôto, provenientes de material colhido no afluente de uma estação de tratamento da cidade. A tabela III mostra a origem do material clínico humano, inclusive os da água de esgôto.

TABELA III
Distribuição das amostras de *Mima* e *Herellea* isoladas

Fonte	<i>Mima polymorpha</i> <i>var. oxidans</i>	<i>Mima polymorpha</i>	<i>Herellea vaginicola</i>	Total
Secreção uretral	—	1	5	6
Urina	—	2	3	5
Secreção vaginal	3	—	—	3
Naso-faringe	—	1	—	1
Acne	—	—	1	1
Fístula operatória abdominal	—	—	1	1
Água de esgôto	2	—	—	2
Total	5	4	10	19

Isolamento

Todos os isolamentos foram obtidos a partir dos seguintes meios: ágar-simples, ágar-sangue, ágar-chocolate, meio ágar-tripticase soy (B.B.L.), meio E.M.B. ágar (Difco). Os meios líquidos utilizados incluem o caldo simples (com água de carne) e o caldo tripticase soy (B.B.L.). As amostras foram sempre mantidas em caldo e ágar inclinado e repicadas cada 2 semanas. O controle da pureza das culturas foi feito pela bacterioscopia corada pelo método de Gram, além da semeadura em placas de ágar-simples.

Identificação das amostras

Foi baseada nos trabalhos de **DeBord**, 1939, 1942, **Irving & Herrick**, 1967; **Gilardi**, 1968; **Baumann & col.** 1968 (a) e (b), comparando os dados obtidos com o comportamento de amostras padrões de *Mima polymorpha* e *Herellea vaginicola* provenientes do Instituto de Microbiologia Médica da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Aspectos morfológicos

A morfologia celular foi observada através esfregaço corado pelo método de Gram, a partir de cultura em caldo simples, com 20-24 horas de incubação a 37°C e também pela microscopia de fase. O aspecto colonial foi observado pela semeadura em meio de E.M.B. ágar (Difco) e ágar-sangue.

Reações bioquímicas

As provas e os meios empregados incluiam: produção de acidez em meio com água triptosada contendo 1% de glicose, lactose, sacarose, manita, xilose, arabinose, maltose, sorbitol, galactose, ramnose, cellobiose, dulcitol, manose, salicina, utilizando-se o azul de bromo timol como indicador de pH, prolongando-se a incubação por 15 dias para a leitura final. Os mesmos açúcares foram estudados no seu comportamento usando-se o meio básico mineral tendo como fonte de carbono o acetato de sódio, como fonte de nitrogênio o cloreto de amônio, e como indicador de reação o vermelho de fenol; ataque ao tartarato de sódio e potássio em meio sólido de acordo com Jordan (1928), sendo usada também a fórmula líquida; comportamento no meio com 10% de lactose em ágar inclinado com vermelho de fenol segundo Chilton & Fulton (1946); observação da oxidação ou fermentação da glicose em meio de Hugh-Leifson (1953), sem acrescentar vaspar ou óleo mineral; produção de indol em água peptonada, utilizando-se o reativo de Kovacs para sua evidenciação; prova de VM-VP em meio de Clarck-Lubs; empregando-se a técnica de Barrit para VP; utilização do citrato em meio de Koser; comportamento em meio de KCN segundo Moeller (1954); redução de nitrato a nitrito em caldo nitratado, utilizando-se o reativo de Griess-Ilosva; atividade gelatinásica em meio com 12% de gelatina; reação de oxidase, de acordo com a técnica de Kovacs (1956); os testes de produção de gás sulfídrico, urease e mobilidade foram observados em meio de Costa e Vernin (1955); a confirmação desta última prova foi feita em meio semi-sólido segundo fórmula de

Kauffmann e, em microscopia de fase; a capacidade hemolisante foi determinada em meio de D.S.T. ágar base (Oxoid), acrescido de sangue de carneiro citratado na proporção de 5%; produção de catalase, em ágar inclinado, utilizando-se água oxigenada a 3% e produção de pigmento em caldo simples, ágar-simples e ágar-amido. O tempo de incubação, a técnica e os reagentes das provas obedeceram às recomendações do "Manual of Microbiological Methods" da "Society of American Bacteriologists (1957)". Todos os carboidratos foram esterilizados por filtração e juntados assèpticamente aos meios de modo a se ter, uma concentração final de 1% do açúcar. Para os repiques utilizou-se a alça de platina com diâmetro interno de 4 mm e agulha de platina quando havia indicação.

Sensibilidade aos antibióticos

A sensibilidade aos antibióticos foi estudada pela técnica dos discos e da diluição do antibiótico em meio sólido. Neste último processo utilizou-se 0,1 e 1 unidade por ml de um produto comercial contendo penicilina G potássica (300.000 unidades) e penicilina procainada (100.000 unidades). Foram empregados os discos Oxoid, código n.º 2024F, tipo urinário e os polidiscos antibióticos segundo Victor Lorian, conseguindo-se dêste modo testar a sensibilidade às drogas relacionadas nas tabelas VII e VIII. O meio empregado foi o D.S.T. ágar Base Oxoid e, o inóculo a partir de cultura em caldo simples de 24 horas a 37°C e espalhamento com *swab* estéril. Após a semeadura na superfície das placas, foi eliminado o excesso de umidade pela incubação a 37°C durante 30-60 minutos. Leitura com 24 horas, tendo-se, como critério de sensibilidade, o tamanho do halo de inibição, de acordo com os padrões utilizados para os polidiscos antibióticos. A sensibilidade das amostras à mistura de penicilina foi testada em meio HIA ágar, Baumann & col., (1968a). Para obtenção das concentrações acima mencionadas o antibiótico foi acrescentado ao meio sólido fundido quando a temperatura caía a 40°C, antes do vazamento das placas. O inóculo para a semeadura das placas com antibióticos foi obtido de culturas de 24 horas a 37°C em meio HIB, Balmann & col. (1968a), usando-se semear 4 amostras em cada placa.

RESULTADOS

Morfologia celular e colonial — Em caldo simples após 24 horas de incubação a 37°C, *Mima* e *Herellea* foram consistentemente Gram negativo. *Mima Polymorpha* e *Herellea vaginicola* apresentaram-se mais

regularmente nas formas cocoides ou diplococoides com pequeno grau de pleomorfismo, enquanto que, *Mima Polymorpha* var. *oxidans* apresentou-se mais regularmente na forma bacilar e com pleomorfismo mais acentuado (Tabela IV). As colônias em ágar-sangue e EMB (Difco), foram, de modo geral, circulares, convexas, bordo inteiro, lisas, opacas, tonalidade branco-pérola a creme no ágar-sangue e azulada a lilás no EMB. Predominantemente, as colônias de *Herellea vaginicola* e *Mima Polymorpha*, sempre foram bem maiores que *Mima polymorpha* var. *oxidans*. No meio de EMB ágar (Difco) esta última apresentou colônias muito pequenas, só bem visíveis à luz refletida, após 48 horas a 37°C. Nenhuma das amostras estudadas demonstrou capacidade hemolítica para sangue citratado de carneiro e, caracteristicamente, *Mima polymorpha* var. *oxidans* cresceu lentamente, em comparação com as outras. Independentemente do gênero e da espécie, algumas amostras dão colônias mucoides e, em caldo simples, após 1 a 2 semanas, à temperatura ambiente, apresentam uma massa de depósito de material gelatinoso. As propriedades bioquímicas são vistas nas Tabelas V e VI e a sensibilidade aos antibióticos nas Tabelas VII, VIII e IX.

TABELA IV
Aspectos morfológicos das amostras de *Mima* e *Herellea*

"Gênero-espécie"	<i>Mima polymorpha</i> var. <i>oxidans</i> (5 amostras)	<i>Mima polymorpha</i> (4 amostras)	<i>Herellea</i> <i>vaginicola</i> (10 amostras)
Propriedade tintorial (Gram)	Predominantemente Gram negativo	Idem	Idem
Morfologia :			
a) celular (1)	bacilar, intenso pleomorfismo	cocoide, diplococoide, apresenta pleomorfismo	cocoide, diplococoide, pleomorfismo mais raro
b) colonial (2)	colônia pequena, geralmente mucoide, circular inteira e bem convexa	colônia grande pode ser mucoide circular inteira, pode ter superfície bem elevada	colônia grande, geralmente mucoide, circular, inteira e superfície elevada

(1) Aspectos observados após 24 horas a 37°C em caldo simples.

(2) Aspectos observados em ágar-sangue, após 24 horas a 37°C.

TABELA V

Características das amostras de *Mima* e *Herellea*

Meio teste ou substrato	<i>Mima polymorpha</i> var. <i>oxidans</i> (5 amostras)	<i>Mima polymorpha</i> (4 amostras)	<i>Herellea vaginicola</i> (10 amostras)
Meio de Costa-Vernin (C.V.)	reação de alcalinidade (5)	reação de alcalinidade (4)	reação de alcalinidade (10)
Meio de Teague	+ (4) cres. escasso — (1) — (5)	+ (4) cres. discreto — (4)	+ (10) cres. abundante — (10)
Hemólise	+ (5)	+ (4)	+ (10)
Catalase	+ (3)	+ (2)	+ (1)
Gelatina	— (2)	— (2)	— (9)
Indol	— (5)	— (4)	— (10)
VM	— (5)	— (4)	— (10)
VP	— (5)	— (4)	— (10)
Citrato Koser	+ (1)	+ (1)	+ (10)
KCN	+ (3)	+ (2)	+ (10)
H ₂ S	— (5)	— (4)	— (10)
NO ₃ -NO ₂	+ (2)	— (3)	— (10)
Mobilidade	— (5)	— (4)	— (10)
Oxidase	+ (5)	— (4)	— (10)
Pigmento	— (5)	— (4)	— (10)
Glicose (H - L)	— (5)	— (4)	+ (10)
Lactose 10%	— (5)	— (4)	+ (10)

Cres. = Crescimento.

(H-L) = Hughs-Leifson.

+ = Resultado do teste positivo.

— = Resultado do teste negativo.

TABELA VI

Oxidação de carboidratos em meio nitrogenado complexo e em meio sintético

Carboidratos	Base nitrogenada complexa						Base sintética					
	"Mima polimorpha" var. <i>oxidans</i>		"Mima polimorpha"		<i>Herellea vaginicola</i>		"Mima polimorpha" var. <i>oxidans</i>		"Mima polimorpha"		<i>Herellea vaginicola</i>	
	A.	N.A.	A.	N.A.	A.	N.A.	A.	N.A.	A.	N.A.	A.	N.A.
Glicose	0/5*	5/5	0/4	4/4	10/10	0/10	0/5	5/5	0/4	4/4	10/10	0/10
Galactose	0/5	5/5	0/4	4/4	10/10	0/10	0/5	5/5	0/4	4/4	10/10	0/10
Manose	0/5	5/5	0/4	4/4	10/10	0/10	0/5	5/5	0/4	4/4	10/10	0/10
Lactose	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10	0/5	5/5	0/4	4/4	10/10	0/10
Latose a 10%	0/5	5/5	0/4	4/4	10/10	0/10	0/5	5/5	0/4	4/4	10/10	0/10
Sacarose	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10
Maltose	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10
Manitol	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10
Dulcitol	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10
Sorbitol	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10
Xilose	0/5	5/5	0/4	4/4	10/10	0/10	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10
Arabinose	0/5	5/5	0/4	4/4	10/10	0/10	0/5	5/5	0/4	4/4	10/10	0/10
Salicina	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10
Ramnose	0/5	5/5	0/4	4/4	5/10	5/10	0/5	5/5	0/4	4/4	5/10	5/10
Cellobiose	0/5	5/5	0/4	4/4	4/10	6/10	0/5	5/5	0/4	4/4	6/10	4/10
Tartarato sol.	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10
Tartarato líq.	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10	0/5	5/5	0/4	4/4	0/10	10/10

A = Ácido.

NA = Nenhuma mudança no indicador.

* O numerador das frações indica o comportamento das amostras e o denominador o número de amostras testadas.

DISCUSSÃO

As características morfológicas de *Mima* e *Herellea* permitem uma semelhança com as *Neisserias*, enquanto que fisiológica e bioquímica-mente são passíveis de serem confundidas com outras bactérias, principalmente as dos gêneros *Pseudomonas* não pigmentadas, *Alcaligenes* e *Moraxella*.

Muitos dos trabalhos existentes sobre isolamento e estudos das propriedades morfobioquímicas dessas bactérias apresentaram resultados diferentes e, devido à semelhança com outros gêneros bacterianos, resultou o aparecimento de dezenas de nomes, como se pode verificar na Tabela X. Por outro lado, ainda não há acôrdo quanto à situação taxonômica conforme se vê na 6.^a Edição do "Manual Bergey" Breed & col. (1948), onde a Tribo *Mimeae* estava colocada na Família *Parvobacteriaceae* e na 7.^a Edição, Breed & col. (1957), não mais constou a Tribo *Mimeae* com os gêneros *Mima* e *Herellea*.

Nos estudos sobre a produção de ácido a partir de hidrocarbonados pelas bactérias dos gêneros *Mima* e *Herellea*, os autores têm observado dualidade de resultados quando são empregados meios complexos nitrogenados e meios sintéticos (Gilardi, 1968 e Baumann & col., 1968b). Este fato parece ser devido à produção de substâncias alcalinas oriun-

TABELA VII
Sensibilidade de *Mima* e *Herellea* aos discos Oxoides, código
n.º 2024-E, tipo urinário *

Antibióticos	Concen- trações	<i>Mima</i> <i>polymorpha</i> <i>var. oxidans</i> (5 amostr.)	<i>Mima</i> <i>polymorpha</i> 4 amostr.)	<i>Herellea</i> <i>vaginicola</i> 10 (amostr.)
Cloranfenicol	50 ug	100	100	70
Ampicilina	25 ug	50	75	80
Tetraciclina	50 ug	100	100	100
Ácido nalidíxico	30 ug	100	100	100
Gentamicina	10 ug	100	100	100
Bactrin	25 ug	40	75	70
Nitrofurantoina	200 ug	40	50	0
Sulfadiazina	300 ug	20	0	30

* Percentagens de sensíveis (sensível e pouco sensível).

das de elementos complexos nitrogenados do meio, neutralizando os ácidos formados. Deve-se considerar, ainda, que a produção de ácido a partir da glicose em meios de cultura sem outra fonte de carbono, tem sido usado como o maior critério taxonômico para este grupo de bactérias e, no entanto, a capacidade de produzir ácidos a partir da glicose, raramente denota utilização deste açúcar como uma fonte de carbono para o crescimento, Baumann & col. (1968b). Por estes motivos, os testes para a produção de ácido a partir da glicose devem ser realizados em meios sintéticos que possuam uma outra fonte de carbono para suportar o crescimento da bactéria.

TABELA VIII

Sensibilidade de *Mima* e *Herellea* aos Polidiscos (21) *

Antibióticos	Concen- trações	<i>Mima polymorpha</i> <i>var. oxidans</i> (5 amostr.)	<i>Mima polymorpha</i> (4 amostr.)	<i>Herellea vaginicola</i> (10 amostr.)
Aureomicina	15 ug	40	25	10
Cloranfenicol	20 ug	100	100	20
Eritromicina	15 ug	0	25	0
Gabromicina	40 ug	80	100	100
Kanamicina	30 ug	100	100	100
Neomicina	25 ug	80	100	100
Novobiocina	25 ug	20	50	50
Colistin	45 ug	100	100	100
Penicilina	5 u	0	0	0
Rifomicina	10 ug	20	50	40
Rovamicina	35 ug	80	100	60
Oxacilina	5 ug	0	0	0
Estreptomicina	15 ug	40	50	70
Terramicina	20 ug	60	50	90
Lincomicina	10 ug	0	0	0
Wintomylon	20 ug	100	75	80
Furadantin	50 ug	20	0	0
Keflin (1)	—	20	25	0
Ilosene (2)	—	40	50	30

* Percentagem de sensíveis (sensível e pouco sensível).

(1) e (2) Discos de Laboratório Lilly.

TABELA IXSensibilidade de *Mima* e *Herellea* a 0,1 e 1 Unidade/ml de Penicilina *

Penicilina U/ml	<i>Mima polymorpha</i> var. <i>oxidans</i>			<i>Mima polymorpha</i>			<i>Herellea</i>		
	Positivo	Negativo	Total	Positivo	Negativo	Total	Positivo	Negativo	Total
0,1	2	3	5	2	2	4	10	—	10
1	2	3	5	1	3	4	8	2	10

* Associação de Penicilina G potássica (300.000 U) e Penicilina procainada (100.000 U).

Positivo — Crescimento.

Negativo — Ausência de crescimento.

TABELA X

Sinônimos dos membros da Tribo *Mimeae*, DeBord, 1942 (adaptado de Casellas, 1968 e Pickett e Manclark,) (1967)

Membro	Sinônimos
<i>Mima polymorpha</i> var. <i>oxidans</i>	<i>Moraxella duplex</i> <i>Moraxella non liquefaciens</i> <i>Moraxella osloiensis</i>
<i>Mima polymorpha</i>	<i>Achromobacter lwoffii</i> <i>Acinetobacter lwoffii</i> <i>Cytophaga lwoffii</i> <i>Acinetobacter polymorpha</i> <i>Moraxella lwoffii</i> <i>Achromobacter metalcaligenes</i>
<i>Herellea vaginicola</i>	<i>Bacterium anitratum</i> <i>D5W</i> <i>Achromobacter anitratus</i> <i>Diplococcus mucosus</i> <i>Moraxella lwoffii</i> var. <i>glucidolytica</i> <i>Acinetobacter anitratus</i> <i>Moraxella vaginicola</i> <i>Moraxella glucidolytica</i> <i>Cytophaga anitratum</i> <i>Lingelsheimia anitratum</i> <i>Alcaligenes metalcaligenes</i> <i>Acinetobacter winogradsky</i> <i>Neisseria winegradsky</i>

Atendendo a estas verificações é que utilizamos uma base sintética tendo como fonte de nitrogênio o cloreto de amônio e como fonte de carbono e acetato de sódio, acrescido dos íons ferro (Fe), magnésio (Mg) e sódio (Na), para a observação da produção de ácidos a partir da glicose e, também, dos outros carboidratos.

Com esta técnica, as culturas de *Mima polymorpha* var. *oxidans* não atacaram nenhum carboidrato tanto em meio nitrogenado complexo

como na base sintética utilizada; *Mima polymorpha* também não revelou nenhuma atividade glicidolítica, quer na base nitrogenada complexa, quer na base sintética. *Herellea vaginicola* sempre produziu ácido, sem gás, em meio nitrogenado complexo a partir de glicose, galactose, manose, arabinose, xilose, lactose a 10% e ataca irregularmente a ramnose e celobiose. Os mesmos resultados foram observados em meio sintético, devendo-se ressaltar que a lactose tanto a 1 como a 10% foi metabolizada, com produção de ácido por todas as amostras estudadas.

Alguns destes resultados estão de acordo com os obtidos por Gilardi (1963), Travassos (1960) e Vernin & Cicenelli (1968); sacarose, manitol, dulcitol e salicina jamais foram atacados por qualquer uma das amostras de *Mima* e *Herellea* de origem humana estudada. *H. vaginicola* sempre produziu ácido a partir de glicose e lactose a 10%, sendo que este último foi observado por Gilardi (1968) apenas em base nitrogenada complexa. Neste meio e em base sintética, nenhuma de nossas amostras de *M. polymorpha* apresentou atividade glicidolítica. No entanto, 9 (nove) açúcares foram atacados irregularmente pelas amostras estudadas por Gilardi (1968). Este fato deve ser devido às diferentes bases sintéticas, uma vez que a utilizada por este autor não possuia outra fonte de carbono que não o carboidrato. Efetivamente, *M. polymorpha* var. *oxidans* não apresenta nenhuma atividade glicidolítica.

O emprêgo do meio de Hugh-Leifson (1953), permitiu distinguir um dos dois processos metabólicos (oxidação ou fermentação) fato a que alguns autores não fazem referência. Foi possível constatar que somente *H. vaginicola* apresenta metabolismo oxidativo, produzindo ácido a partir da glicose.

A produção de pigmento foi estudada durante um longo período (6 meses), empregando-se caldo simples, ágar-inclinado e ágar-amido inclinado, de acordo com o "Manual of Microbiological Methods" (Society of American Bacteriologists). Esta observação estava relacionada com a manutenção das culturas. Os repiques eram feitos de 15/15 dias e após passagem na estufa a 37°C por 24 horas, permaneciam à temperatura ambiente e na presença da luz difusa. Nenhuma das amostras desenvolveu pigmentos.

Dos inúmeros trabalhos publicados sobre *Mima* e *Herellea*, verifica-se haver perfeito acordo entre os pesquisadores na maioria das características bacteriológicas estudadas, havendo, no entanto, resultados contraditórios em algumas propriedades importantes.

A sensibilidade aos antibióticos apresentou resultados bem diferentes daqueles observados por **Gilardi** (1968). No trabalho dêste autor, *Mima polymorpha var. oxidans* foi sensível a 17 das 19 substâncias testadas. Em nossos dados (Tabela VII e VIII) não encontramos esta característica. Das 19 drogas testadas só houve sensibilidade a quatro. Mesmo utilizando os discos Oxoid, tipo urinário, no qual a concentração é duas ou três vezes superior à dos discos comuns, de 8 substâncias só 4 mostraram sensibilidade: cloranfenicol, tetraciclina, gentamicina e ácido nalidíxico. No entanto, quanto à *H. vaginicola* e *M. polymorpha*, a grande variação de sensibilidade às diversas substâncias foi confirmada. Um resultado importante, idêntico ao observado por **Gilardi** (1968), **Travassos** (1960) e **Vernin & Ciconelli** (1968) é que as amostras por nós estudadas foram sensíveis à kanamicina, colistin, neomicina e gabromicina (Tabela VIII).

Nas condições do presente trabalho, não observamos a tão citada sensibilidade da *Mima polymorpha var. oxidans* à penicilina, **Gilardi** (1968), **Baumann & col.** (1968). Das amostras por nós isoladas, 3 foram sensíveis a 0,1 e 1 unidade, e 2 amostras foram resistentes (Tabela IX). *M. polymorpha* variou na sensibilidade e *H. vaginicola* é regularmente resistente à estas duas concentrações de penicilina.

A redução de nitrato a nitrito em meio nitrogenado complexo, está de acordo com **Baumann & col.** (1968a) e **Gilardi** (1968). Sómente algumas amostras de *M. polymorpha var. oxidans* apresentaram esta capacidade, fato este não observado por **DeBord** (1942). Já **Pièchaud** (1961) verificou que todas suas amostras determinavam aquela redução.

As amostras de *Mima* e *Herellea* estudadas no presente trabalho foram imóveis, como observado pela maioria dos autores, **Travassos** (1960), **Gilardi** (1968), **Vernin & Ciconelli** (1968), **Baumann & col.** (1968 a e b), **Stangalini & Pedrinazzi** (1968). No entanto, **Nelson & Shelton** (1965) encontraram amostras móveis e **Lautrop** (1961) demonstrou movimento de deslizamento na *H. vaginicola*, enquanto **Baumann & col.** (1968b) verificaram movimento de expansão-contração e movimentação das células na superfície do meio sólido, tanto das amostras oxidase positivos como negativos.

As amostras de *H. vaginicola* não produziram ácido de maltose, lactose e sacarose em meio nitrogenado complexo, como também foi observado por **Gilardi** (1968) e outros. No entanto, o ataque à êstes carboidratos nestas condições tem sido assinalado por certos autores: **Beer** (1963), **Brodie & Anderson** (1964).

Fazendo-se uma apreciação dos resultados do presente trabalho em confronto com os resultados de outros autores, pode-se dizer que: *Mima* e *Herellea* são pequenos bacilos ou cocobacilos que se dispõem aos pares e até em pequenas cadeias, aeróbios estritos, Gram negativos (podendo resistir à descoloração), imóveis, não esporulam, catalase positivos, não produzem pigmentos e não produzem indol. *Mima polymorpha* var. *oxidans* distingue-se de *Mima polymorpha* e *Herellea vaginicola* por ser oxidase positiva, não atacar nenhum carboidrato quer em meio complexo nitrogenado, quer em meio mineral, produzir pequenas colônias em ágar e poder reduzir nitrato a nitrito. *Mima polymorpha* e *Herellea vaginicola* são oxidase negativas, produzem grandes colônias em ágar, não reduzem nitrato a nitrito, havendo ou não crescimento no meio de citrato de Koser, KCN, podendo ou não hidrolizar a gelatina. *Mima polymorpha* pode ser diferenciada de *Herellea vaginicola* porque esta última produz ácido a partir da glicose nos meios de Hugh-Leifson (1953), nitrogenado complexo e em ágar inclinado lactosado a 10%, quer em base nitrogenada complexa, quer em base sintética.

RESUMO

No presente trabalho, os autores estudaram as propriedades morfo-bioquímicas e a sensibilidade aos antibióticos de 19 amostras de bactérias dos gêneros *Mima* e *Herellea* isoladas de material clínico e identificadas como *Mima polymorpha* variedade *oxidans*, *Mima polymorpha* e *Herellea vaginicola*.

No estudo bioquímico observou-se que *Herellea vaginicola* foi oxidase negativa e em meio complexo nitrogenado, consistentemente ataca a glicose, galactose, manose, arabinose, xilose, lactose a 10% e irregularmente ataca a ramnose e a cellobiose; em base sintética nitrogenada, além das atividades citadas, consistentemente produziu ácido a partir da lactose. *Mima polymorpha* foi oxidase negativa, não apresentando atividade glicidolítica, quer em meio complexo nitrogenado, quer em base sintética nitrogenada. *Mima polymorpha* var. *oxidans*, foi oxidase positiva, não revelando nenhuma atividade glicidolítica.

Herellea vaginicola e *Mima polymorpha* mostraram grande sensibilidade à gabromicina, kanamicina, neomicina, colistin, sendo que a última também foi muito sensível ao cloranfenicol e rovamicina. *Mima polymorpha* var. *oxidans*, apresentou grande sensibilidade à kanamicina, neomicina, colistin, cloranfenicol e wintomylon.

A sensibilidade das amostras a 1 a 0,1 unidade de penicilina/ml, nas condições ensaiadas no presente trabalho, não foi absoluta, como a observada por Baumann, Doudoroff & Stanier (1968a) que permitisse uma separação entre amostras oxidase positiva e negativa ou uma diferenciação dentro do grupo das bactérias oxidase positiva.

SUMMARY

The authors studied the morpho-biochemical characteristics and antibiotic sensitivity of 19 strains of bacteria isolated from clinical specimens and identified as *Mima polymorpha* var. *oxidans*, *Mima polymorpha* and *Herellea vaginicola*. The biochemical study indicated *Herellea vaginicola* to be oxidase negative and in complex nitrogenous media effectively utilize glucose, galactose, manose, arabinose, xylose, 10% lactose and irregularly utilize rhamnose and cellobiose; in the synthetic base media the strains produced acid from lactose and have the same sugar oxidations as described before. *Mima polymorpha* was oxidase-negative and failed to utilize the carbohydrates tested in either the complex nitrogenous media or the synthetic base media. *Mima polymorpha* var. *oxidans* was oxidase-positive and failed to utilize the carbohydrates tested.

The *Herellea vaginicola* and *Mima polymorpha* was very susceptible to gabromycin, kanamycin, neomycin, colistin and the former was very sensitive to chloranphenicol and rovamycin. *Mima polymorpha* var. *oxidans* presented high sensibility to kanamycin, neomycin, colistin, chloranphenicol and nalidixic acid.

With the results obtained by the sensibility of strains to the 1 and 0,1 unity of penicillin by milliliter, it was impossible to separate the oxidase-positive and oxidase-negative strains in discordance with the data obtained by Baumann, Dodoroff & Stanier (1968 a).

AGRADECIMENTO

Agradecemos ao Dr. Robert E. Weaver, in Charge, Special Bacteriology Lab., Clinical Bacteriology Unit, Bacteriology Section, do Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, National Communicable Disease Center, C.D.C., Atlanta, Georgia, por haver gentilmente confirmada a identificação de algumas de nossas amostras de *Mima* e *Herellea*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDUREAU, A., 1940 — Etude du genre *Moraxella*. *Ann. Inst. Pasteur*, 64: 126-166.
- BAUMANN, P., DOUDOROFF, M. & STAINER, R. Y., 1968a — Study of the *Moraxella* Group I - Genus *Moraxella* and the *Neisseria catarrhalis* group. *J. of Bact.*, 95: 58-73.
- BAUMANN, P., DOUDOROFF, M. & STAINER, R. I., 1968b — A study of the *Moraxella* Group. II — Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*). *J. of Bact.*, 95: 1520-1541.
- BEER, H., 1963 — Zur Diagnostik Gram negativer, aerober Stäbchen. *Pathol. Microbiol.*, 26: 607-634.
- BREED, R. S., MURRAY, E. G. D. & HITCHENS, H., 1948 — "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", 7 th ed., Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md.
- BREED, R. S., MURRAY, E. G. D. & SMITH, N. R., 1957 — "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", 7 th. ed., Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md.
- BRET, A. J. & DURRIEUX, R., 1961 — Infections vaginales à *Moraxella*, Identifications et conséquences neonatales. *Presse Med.*, 69: 2002-2005.
- BRISOU, J., 1953 — Essai sur la systématique du genre *Achromobacter*. *Ann. Inst. Pasteur*, 84: 812-814.
- BRISOU, J. & PRÉVOT, A. R., 1954 — Étude de systématique bactérienne. X — Révision des espèces reunis dans le genre *Achromobacter*. *Ann. Inst. Pasteur*, 86: 722.
- BRODIE, J. & HENDERSON, A., 1963 — *Mima polymorpha* infection. *J. Clin. Pathol.*, 16: 49.
- BRODIE, J. & HENDERSON, A., 1964 — Further observations on *Mima polymorpha* and *Achromobacter (Bacterium) anitratum*. *J. Clin. Pathol.*, 17: 513-516.
- BROOKE, R. & MARKUS S., 1951 — The occurrence of B5W (*B. anitratum*) strains in Denmark. *Acta Pathol. Microb. Scand.* 28: 338-342.
- CASELLAS, J. M., 1968 — Contribuição ao estudo de bactérias Gram negativas, aeróbias, produtoras de ácidos ônicos (Grupo *Lwoffii-glucidolytica*). Tese apresentada ao Instituto de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, para obtenção do grau de Mestre em Microbiologia. Rio de Janeiro, 1968.
- CHILTON, M. L., 1946 — A presumptive medium for differentiation *Paracolon* from *Salmonella* cultures. *J. Lab. Clin. Med.*, 31: 824-827.
- COSTA, G. A. & SOLÉ-VERNIN, C., 1955 — Sobre u'a modificação do meio de Monteverde. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 53, (1): 105-114.
- DEBORD, G. G., 1939 — Organisms invalidating diagnosis of gonorrhea by smear method. *J. Bact.*, 38: 119-120.
- DEBORD, G. G., 1942 — Descriptions of *Mimeae* Trib. nov. with three genera and three species and two new species of *Neisseria* from conjuntivitis and vaginitis. *Iowa State Coll. J. Sci.*, 16: 471-480.
- DEBORD, G. G., 1948 — *Mima polymorpha* in meningitis. *J. Bacteriol.* 55: 764-765.
- ELLIS, E. M., 1961 — The recovery of *Bacterium anitratum* (B5W) from animais. *Am. J. Vet. Res.*, 22: 610.

- FAUST, J. & HOOD, M., 1949 — Fulminating septicemia caused by *Mima polymorpha*. *Am. J. Clin. Pathol.*, 19: 1143.
- GILARDI, G. L., 1968 — Morphological and Biochemical differentiation of *Achromobacter* and *Moraxella* (DeBord's Tribe Mimeae). *Appl. Microbiol.*, 16: 33-38.
- GLICK, L. M., MORAN, G. P., COLEMAN, J. M. & O'BRIEN, G. F., 1959 — Lobar pneumonia with bacteremia caused by *Bacterium anitratum*. *Am. J. Med.*, 27: 183.
- HENRIKSON, S. D., 1951 — *Moraxella duplex*, var. *non liquefaciens*, as a cause of bronchial infection. *Acta Pathol. Micr. Scand.* 29: 258-262.
- HUGH, R. & LEIFSON, E., 1953 — The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various Gram negative Bacteria. *J. Bacteriol.*, 86: 24-26.
- INCLAN, A. P., MASSEY, L. C., CROOK, B. G. & BELL, J. S., 1965 — Organisms of the Tribe *Memeae*. Incidence of isolation and clinical correlation at the city of Memphis. *Hospitals South. Med. Journ.* 58: 1261-1266.
- IRVING, W. R. & HERMICK, W. C., 1967 — The bacteria *Mima-Herellea*. Isolation and clinical significance in a general Hospital. *Am. J. Clin. Path.* 47: 729-733.
- JORDAN, E. O. & HARMON, P. H., 1928 — A new differential medium for the *paratyphoid* group. *J. Infec. Des.*, 42: 238-241.
- KAUFFMANN, F. — In the *Enterobacteriaceae*, Second revised edition. Ejnar Mensksgaard Publisher, Copenhagen, 1954.
- KENNER, B. A. & KOBLER, P. W., 1953 — Member of the Tribe *Mimeae* isolated from river water. *J. Bacteriol.* 72: 870.
- KING, O. H., COPELAND, G. D. & BERTON, W. M., 1963 — Cardiovascular lesions of the *Mimeae* organisms. *Am. J. Med.*, 35: 241-250.
- KOBURGER, J. A., 1964 — Isolation of *Mima polymorpha* from dairy-products. *J. Dairy Sci.* 47: 646.
- KOVACS, N., 1956 — Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by oxidase reaction. *Nature*, 178-703.
- LAUTROP, H., 1961 — *Bacterium anitratum* transferred to the genus *Cytophaga*. *Inter. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon.*, 11: 107-108.
- LEDUC, A., FONTAINE, J., BRAZEAU, M., PANISSÉT, L. C. & MONTPLAISIR, S., 1969 — Le Bacteriologue clinique face à un problème de classification: *Moraxella*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*. *Canadian J. of Microbiol.*, 15: 655-663.
- LEMOIGNE, M., GIRARD, H. & JACOBELLI, G., 1952 — Bactérie du sol utilisant facilement le 2-3 butanodiol. *Ann. Inst. Pasteur*, 82: 389-398.
- LINGELSHEIM, W. von, 1908 — Bieträge zur Atiologie der epidemischen geniokstasse nach den Ergebnissen der letzten jahre. *J. Hyg.*, 59: 457-483.
- LIU-KUEI-CHIH, LI-CHIA-HUNG & CHI-CHANG-TSAI, 1966 — Isolation and identification of organisms of *B. anitratum* group. *Acta. Micr. Sinica*, 12: 1-6.
- LOTHE, F. & GRIFFIN, F., 1965 — *Bacterium anitratum* and *Mima polymorpha* infections in Uganda. *J. Clin. Path.*, 18: 301-306.
- LWOFF, A., 1939 — Révision et démenbrement de *Hémophilae*. Le genre *Moraxella* nov. gen. *Ann. Inst. Pasteur*, 68: 168.

- MINZTER, A., 1956 — Human infection caused by *Mimeae* organisms: report of a case of presumably healed bacterial endocarditis due to *Herellea vaginalis*. *Arch. Internal. Med.*, 98: 352-355.
- MOELLER, V., 1954 — Diagnostic use the Braun KCN test within the Enterobacteriaceae. *Acta path. et Microbiol. Scand.* 34: 115-126.
- NELSON, J. D. & SHELTON, S., 1965 — Cultural, biochemical and immunological properties of *Mima*, *Herellea* and *Flavobacterium* species. *Appl. Microbiol.*, 13: 801-807.
- OLAFSSON, M., LEE, Y. C. & ABERNATHY, T. J., 1958 — *Mima polymorpha* meningitis: a report of a case and review of the literature. *New Engl. J. Med.*, 258: 465.
- PEDRINAZZI, R. & STANGALINI, A., 1968 — Su alcune Affezioni infantili con emocultura positiva par *Mima polymorpha*. *Giorn. mal. Inf. Parass.*, 20: 935-937.
- PICKETT, M. J. & MANCLARK, D. R., 1965 — Tribe *Mimeae*. An illegitimate epithet. *The Amer. J. of Clin. Path.*, 43: 161-165.
- PIÉCHAUD, D., PIÉCHAUD, M. & SECOND, L., 1951 — Étude de 26 souches de *Moraxella lwoffi*. *Ann. Inst. Pasteur.*, 80: 97.
- PIÉCHAUD, D., PIÉCHAUD, M. & SECOND, L., 1956 — Variétés protéolytiques de *Moraxella lwoffi* et de *Moraxella glucidolytica* (*Bact. anitratum*). *Ann. Inst. Pasteur*, 90: 517-522.
- PRAKASH, O., BALAKRINSHNAM, P., SILVARAJAN, K. & SETH, R., 1963 — Isolations of strains resembling *Bacterium anitratum* from patients in Dehli. *Indian J. Microb.*, 3: 23-28.
- ROBY, C., 1954 — A propos d'un cas de méningite cerebro-spinale à *Moraxella lwoffi* observé au Vietnam. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 47: 218-222.
- SCHAUB, I. G. & HAUBER, F. D., 1948 — A biochemical and serological study of a group of identical unidentifiable Gram-negative bacilli from human sources. *J. Bacteriol.*, 56: 379-385.
- SOLÉ-VERNIN, C. & CICONELLI, A. J., 1968 — Uretrite "gonococica" e a chamada tribo *Mimeae*, DeBord, 1942, em Ribeirão Preto, SP. *O Hospital*, 73: 234-243.
- SNODGRASS, C. J. & KOBURGER, J. A., 1967 — The isolation and characterization of the tribe *Mimeae* in Foods tuffs. *J. of Food Science*, 32: 289-591.
- STANGALINI, A. & PEDRINAZZI, R., 1968 — Ricerca di microorganismi della tribù *Mimeae* nelle fauci e nelle feci di bambini sonie Malati. *Giornale di Malattie Infettive e Parass.*, 20: 923-934.
- STUART, C. A., FORMOL, S. & MCGANN, V., 1949 — Further studies of B5W an anaerogenic group in the Enterobacteriaceae. *J. Infect. Diseases*, 84: 235-239.
- SVIHUS, R. H., LUCERE, E. M., MIKOLAOZYK, R. J. & CARTER, E. E., 1961 — Gonorrhea-like syndrome caused by penicillin resistant *Mimeae*. *J. A. M. A.*, 177: 121-124.
- TRAVASSOS, L. R., 1960 — Isolamento e identificação de bactérias da tribo *Mimeae* (DeBord, 1942). *An. Microbiol.*, 20: 105-130.