VOLUME 1 *Janeiro-Março 1959* N.º 1

REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA

Órgão Oficial da Sociedade Brasileira de Microbiologia

Publicada pela
SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA
Caixa Postal — Botafogo 6
Rio de Janeiro — Brasil

REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA

Comissão Técnica

Presidente
MILTON THIAGO DE MELLO
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.
Redator-Responsável
(*Editor*)

A. CHAVES BATISTA
Instituto de Micologia
Universidade do Recife
Recife, Pernambuco

AMILCAR VIANA MARTINS
Instituto Oswaldo Cruz
Rio de Janeiro, D.F.

JOAQUIM TRAVASSOS
Instituto de Microbiologia
Universidade do Brasil
Rio de Janeiro, D.F.

METRY BACILLA
Instituto de Biologia e
Pesquisas Tecnológicas
Curitiba, Paraná

MILTON G. GUERREIRO
Instituto de Pesquisas Veterinárias
"Desidério Finamor"
Pôrto Alegre, Rio Grande do Sul

NEWTON NEVES DA SILVA
Instituto de Pesquisas Biológicas
Pôrto Alegre, Rio Grande do Sul

PAULO CORDEIRO DE AZEVEDO
Faculdade de Medicina
Belém, Pará

PAULO DE GÓES
Instituto de Microbiologia
Universidade do Brasil
Rio de Janeiro, D.F.

RAYMUNDO MONIZ DE ARAGÃO
Escola Nacional de Química
Universidade do Brasil
Rio de Janeiro, D.F.

RODOLPHO DE CAMARGO
Instituto Zimotécnico
Escola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz"
Piracicaba, São Paulo

A REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA, Órgão Oficial da Sociedade Brasileira de Microbiologia, tem por fim a publicação de trabalhos científicos e divulgar assuntos diversos relacionados com a Microbiologia e a Sociedade Brasileira de Microbiologia.

Os conceitos existentes em artigos assinados são de responsabilidade exclusiva de seus autores e a publicação dos trabalhos não implica na aprovação dos mesmos pela Sociedade Brasileira de Microbiologia.

A REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA é publicada trimestralmente (março, junho, setembro e dezembro).

(continua na última contracapa)

VOLUME I *Janeiro-Março 1959* N.º 1

REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA

ÍNDICE

Influência da luz monocromática sôbre a virulência bacteriana (*Influence of monochromatic light on bacterial virulence*). NIBER DA PAZ M. SILVA, ARLETE UBATUBA e GENESIO PACHECO 1

Observações sôbre o uso de cabelo para o cultivo de fungos (*Observations on the use of hair for the cultivation of fungi*). ALBA SANCHEZ.... 4

Influência do silicato sôbre o crescimento do *Mycobacterium tuberculosis* (*Influence of silicate on the growth of Mycobacterium tuberculosis*). PEDRO FONTANA Jr. e LAERTE M. DE ANDRADE 9

Aplicação do método de redução de hemoglobina à determinação rápida da sensibilidade de bactérias a antibióticos em serviços de rotina hospitalar (*The use of hemoglobin reduction method for detection of sensitivity to antibiotics in routine hospital work*). RUBENS ROCHA VIEIRA 15

Salmonella kentucky. Sua ocorrência em bovinos, no Brasil (*Salmonella kentucky. Its occurrence in cattle in Brazil*). VICENTE LEITE XAVIER 19

Nova técnica de indução de fase para salmonelas (*New technique for phase induction in Salmonellae*). OCTAVIO BARACCHINI 25

A gripe asiática no Rio Grande do Sul. Sua evolução em 1957/58 (*Asian influenza in the State of Rio Grande do Sul. Its evolution in* 1957/58). NEWTON NEVES DA SILVA 27

NOTAS:

Isolamento e identificação do vírus da encèfalomielite Venezuela no Pará (*Isolation and identification of Venezuelan equine encephalomyelitis virus in the State of Pará*). O.R. CAUSEY e D.N.G. MACÊDO..... 35

Surto epidêmico de influenza "B" durante a pandemia de gripe asiática em São Paulo (*Epidemic outbreak of "B" influenza during the Asian influenza pandemic in the State of São Paulo*). ROBERTO DE ALMEIDA MOURA e OSCAR DE SOUZA LOPES 36

O tratamento pela isoniazida como processo adjuvante na profilaxia da tuberculose bovina (*Treatment by isoniazide as an adjuvant method in the control of cattle tuberculosis*). ADOLFO M. PENHA e L. B. S. AMARAL 37

Inquérito sôbre a relação entre a brucelose em porcos e em tratadores de suínos (*Survey on the relation of swine brucellosis to hog caretakers*). WALDEMAR FERREIRA DE ALMEIDA e AYMÁ DJALMA CALDAS.. 38

NOTICIÁRIO:

SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA e REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA. MILTON THIAGO DE MELLO 39

Infraestrutura para o trabalho científico. PAULO DE GÓES 42

VII Congresso Internacional de Microbiologia. GOBERT DE ARAUJO COSTA. 45

O Instituto de Microbiologia 46

Estatutos da SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA 54

Informações sôbre primatas 57

Notícias diversas 58

Atividades das Seções Regionais da SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA 61

SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA

Presidente — GENESIO PACHECO, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D.F.

Vice-Presidente — ADOLFO MARTINS PENHA, Instituto Biológico, São Paulo.

Secretário — ITALO SUASSUNA, Instituto de Microbiologia, Rio de Janeiro, D.F.

Tesoureiro — HEBE LABARTHE MARTELLI, Escola Nacional de Química, Rio de Janeiro, D.F.

Conselheiros Eleitos pelas Seções Regionais:

PAULO CORDEIRO DE AZEVEDO, Faculdade de Medicina, Belém, Pará.

LUIZ SIQUEIRA CARNEIRO, Faculdade de Medicina, Recife, Pernambuco.

ALEXANDRE LEAL COSTA, Faculdade de Medicina, Salvador, Bahia.

JOAQUIM TRAVASSOS, Instituto de Microbiologia, Rio de Janeiro, D.F.

LAERTE MANHÃES DE ANDRADE, Instituto Vital Brazil, Niterói, Est. do Rio.

METRY BACILLA, Instituto de Biologia e Pesquisas Tecnológicas, Curitiba, Paraná.

NEWTON NEVES DA SILVA, Instituto de Pesquisas Biológicas, Pôrto Alegre, R. G. do Sul.

SEÇÕES REGIONAIS DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA

Seção do Pará

Presidente: LAURÊNIO TEIXEIRA DA COSTA, Instituto Evandro Chagas, Belém, Pará.

Seção do Ceará

Presidente: JOSÉ BORGES DE SALES, Faculdade de Farmácia e Odontologia, Fortaleza, Ceará

Seção de Pernambuco

Presidente: MÁRIO RAMOS E SILVA, Faculdade de Medicina, Recife, Pernambuco.

Seção da Bahia

Presidente: EDUARDO LINS FERREIRA DE ARAUJO, Faculdade de Medicina, Salvador, Bahia.

Seção Fluminense

Presidente: J. MADUREIRA PARÁ, Instituto Vital Brazil, Niterói, Estado do Rio.

Seção do Rio de Janeiro da S.B.M. e Ramo do Rio de Janeiro da "Society of American Bacteriologists"

Presidente: RAYMUNDO MONIZ DE ARAGÃO, Escola Nacional de Química, Rio de Janeiro, D.F.

Seção de São Paulo

Presidente: ADOLFO MARTINS PENHA, Instituto Biológico, São Paulo.

Sociedade de Microbiologia de Ribeirão Prêto (Seção da S.B.M.)

Presidente: JOSÉ OLIVEIRA DE ALMEIDA, Faculdade de Medicina, Ribeirão Prêto, S. Paulo.

Seção de Minas Gerais

Presidente: ABDON HERMETO DE PÁDUA COSTA, Instituto Ezequiel Dias, Belo Horizonte, Minas Gerais

Seção do Paraná

Presidente: FRIDOLIN SCHLÖGEL, Instituto de Biologia e Pesquisas Tecnológicas, Curitiba, Paraná.

Seção do Rio Grande do Sul

Presidente: JANDYR MAIA FAILLACE, Instituto de Pesquisas Biológicas, Pôrto Alegre, Rio Grande do Sul.

SÓCIOS COOPERADORES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA

CHIMICA BAYER LTDA. — Rio de Janeiro, D.F.

GUILHERME GUINLE — Rio de Janeiro, Distrito Federal.

INSTITUTO VITAL BRAZIL — Niterói, Estado do Rio.

LABORATÓRIO GEYER — Pôrto Alegre, Rio Grande do Sul

PFIZER CORPORATION DO BRASIL — Rio de Janeiro, D.F.

REV. BRAS. MICROB.,
1959, *1* (1):1-3

INFLUÊNCIA DA LUZ MONOCROMATICA SÔBRE A VIRULÊNCIA BACTERIANA[1]

NIBER DA PAZ M. DA SILVA, ARLETE UBATUBA e GENÉSIO PACHECO

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

Recebido para publicação em 8-9-1958

A influência da luz monocromática no crescimento bacteriano tem sido relativamente pouco estudada, apesar dos trabalhos iniciais sôbre o assunto datarem do século passado.

O estudo intensivo das radiações de efeito químico, na faixa do Ultra-Violeta e de outras radiações, tem relegado para segundo plano o interêsse dos pesquisadores pelas radiações ditas luminosas e seus efeitos em relação aos germes.

Com a finalidade de verificar alterações no comportamento bacteriano, provocadas por determinados comprimentos de onda, fizemos os primeiros ensaios, procurando focalizar, principalmente, possíveis modificações da virulência.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos a amostra de bacilo tífico 42-A-58 Panamá, usada no preparo de vacina, crescida em agar simples, enriquecido com peptona a 2%. Após repiques sucessivos, o germe foi cultivado em caldo simples (com 2% de peptona) e colocado na estufa a 37°C, durante 6 horas. Desta cultura jovem, em meio líquido, passamos para vários tubos de agar inclinado.

Grupos de dois tubos foram introduzidos em caixas de madeira, nas quais uma das faces foi substituída por uma placa de vidro corado. Dos vidros coloridos que utilizamos, selecionamos o amarelo e o azul, em virtude dos resultados prévios obtidos, sendo as suas características, quanto à transmissão luminosa, as registradas na figura 1. Uma testemunha foi colocada em caixa semelhante, possuindo uma face de vidro incolor e transparente; outra testemunha, em condições idênticas, em caixa onde o vidro foi recoberto com papel-prêto e opaco.

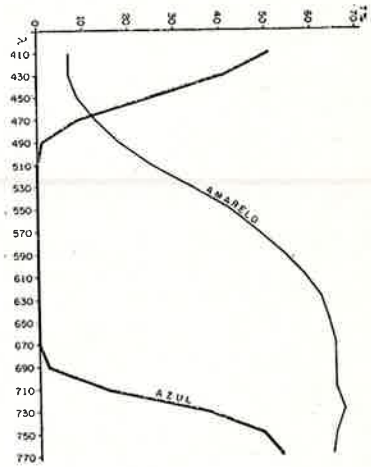

Figura 1. Determinação da transparência dos vidros coloridos em amarelo e azul. Espectrofotômetro Coleman Universal

O processo de aeração foi o mesmo para tôdas as semeaduras e a temperatura externa mantida constante, de modo a dar, no interior das caixas, uma temperatura em tôrno de 37°C. Entretanto, foram observadas diferenças nas temperaturas internas das caixas com vidro amarelo (37,5°C) e azul (36,5°C).

[1]Apresentado na Reunião da Seção do Rio de Janeiro da SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA, em 4-11-1957.

Dispostos os tubos nas diferentes caixas, foram estas colocadas a igual distância (12 cm) de uma fonte de luz artificial (lâmpada GE 120-60 W.). A luz atravessava a face de vidro da caixa e incidia sôbre a superfície do meio semeado, de tal maneira que as culturas só podiam receber luz amarela, azul ou branca (artificial).

Após 18 horas de incubação, o crescimento foi recolhido e feita a suspensão em solução salina, padronizando-se a quantidade de germes por opacidade, em colorímetro foto-elétrico Klett-Summerson. Aproximadamente $2x10^8$ de germes, em 0,5 ml, foram inoculados, intraperitonealmente, em cada camundongo.

Usamos lotes de animais de 16-18 g, sendo as observações feitas com 18, 24 e 48 horas. As experiências foram suficientemente repetidas (6 vêzes), após ensaios preliminares para fixação do critério a seguir.

RESULTADOS

O número de camundongos mortos, após a inoculação das diferentes suspensões, permitiu observar que as bactérias incubadas, em presença de luz amarela e luz branca artificial, se mostraram muito menos virulentas, matando menor número de camundongos do que aquelas incubadas em presença de luz azul ou no escuro (figura 2).

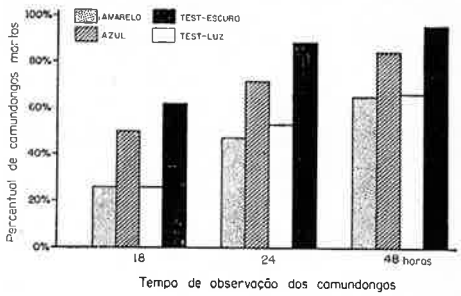

Figura 2. Camundongos mortos em conseqüência de inoculações de culturas de **Salmonella typhi** crescidas em presença de luz amarela, luz azul, luz de lâmpada comum e na ausência de luz.

A análise estatística dos resultados obtidos com 18 e 48 horas pode ser vista na tabela I, evidenciando terem sido as diferenças encontradas estatìsticamente significativas.

TABELA I

Percentuais de camundongos mortos após 18 e 48 horas de observação distribuídos conforme o tipo de luz

Experiência N.º	Nº de camundongos para cada côr	TIPO DE LUZ				TESTEMUNHAS			
		Amarelo		Azul		Luz		Escuro	
		18 hs.	48 hs.	18 hs.	48 hs.	18 hs.	48 hs.	18 hs.	48 hs.
1	50	16	66	50	86	38	86	66	100
2	20	45	80	60	85	25	85	60	100
3	20	30	80	25	75	0	25	55	90
4	20	35	70	50	85	20	65	50	95
5	20	40	70	75	90	45	55	75	95
6	20	5	25	45	85	10	55	65	85
Para o conjunto de 6 experiências	150	26,0	65,3	50,7	84,7	26,0	66,7	62,7	95,3

* a) Com 18 hs.: excetuando a diferença entre 50,7 e 62,7, tôdas as outras são estatìsticamente significantes ao nível de 5%. Não foi testada a diferença entre Amarelo e Test-Luz.

b) Com 48 hs.: excetuando a diferença entre 65,3 e 66,7, tôdas as outras são estatìsticamente significantes ao nível de 5%.

DISCUSSÃO

Depois de bem esclarecido por Barnard & Morgan (1904) que a influência bactericida da luz era devida aos raios ultravioleta do espectro, confirmada por muitos outros (Prudhomme, 1937; Gates, 1931; Rouyier & Servigne, 1938), pouco se cuidou de apurar o grau de influência de outros raios do espectro sôbre bactérias.

Anteriormente, Ward (1893) estudou a ação de raios luminosos sôbre o *Bacillus anthracis*, tendo em vista a observação de que a luz solar do inverno era de menor ação bactericida que a do verão. Verificou que o efeito inibidor era mais intenso com a luz azul do que com a vermelha, ambas obtidas através de vidro colorido.

Ensaios interessantes são os de Laroquette (1918), também com vidros coloridos. Embora a luz azul não produzisse efeito mais intenso que a luz total, foi mais ativa na ação bactericida que a verde, vermelha e amarela (esclarece que os vidros empregados não forneciam luz monocromática).

Thiele & Wolff (1906) investigaram a ação bactericida com luz monocromática, concluindo que o efeito dependia da luz ultra-violeta assinalando diferenças de ação entre as faixas de comprimentos de onda mais e menos longos.

Em nossas experiências ficou bem demonstrada a diferença na atividade das culturas incubadas em presença de luz amarela e azul, ambas obtidas com os vidros empregados. Deve-se notar, contudo, que a análise espectrofotométrica dos mesmos acusa a presença de diferentes radiações, conforme pode ser verificado na figura 1.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. J. Manceau, do Serviço Especial de Saúde Pública (SESP), os cálculos estatísticos e ao Dr. F. Ubatuba a análise dos vidros empregados.

SUMÁRIO

Culturas de *Salmonella typhi* virulentas, crescidas em presença de luz azul e amarela, revelaram diferenças quanto à virulência. Com a luz azul foram mais ativas do que com a luz amarela e a luz de lâmpada comum.

As culturas crescidas na ausência de luz mostraram-se mais virulentas do que as restantes.

SUMMARY

Influence of monochromatic light on bacterial virulence

Cultures of a virulent strain of *Salmonella typhi* grown in presence of blue and yellow light showed differences in its virulence. Those grown in blue light were more virulent to mice than those grown in yellow and common artificial light.

Cultures incubated in absence of light were more virulent than those grown in presence of blue, yellow or common light.

BIBLIOGRAFIA

BARNARD, J. E. & MORGAN, H. DE R. Upon the bactericidal action of some ultraviolet radiations as produced by the continuous current arc. Proc. Royal Soc. London, 1904, *72:* 126-128.

GATES, F. L. A study of the bactericidal action of ultra-violet light. III — The absorption of U. V. light by bacteria. Jour. Gen. Physiol., 1931, *14:* 31-42.

LAROQUETTE, M. DE. Expériences sur l'action bactéricide de la lumière solaire. (Lumière blanche totale et lumières partielles ou de couleurs). Ann. Inst. Pasteur, 1918, *32:* 171-192.

PRUDHOMME, R. O. Zones d'action des rayon ultra-violettes sur la vitalité des germes microbiens. C. R. Soc. Biol. 1937, *126:* 289-291.

ROUYER, M. & SERVIGNE, M. Étude de l'action microbicide des radiations ultra-violettes. Ann. Inst. Pasteur, 1938, *61:* 565-578.

THIELE, H. & WOLFF, K. Uber die abtotung von bakterien durch licht. Arch. G. Hyg., 1906, *57:* 29; 1907, *60;* 29.

WARD, H. M. Experiments on the action of light on *Bacillus anthracis*. Proc. Royal Soc. London, 1893, *52:* 393-400.

REV. BRAS. MICROB.,
1959, *1* (1):5-8

OBSERVAÇÕES SÔBRE O USO DE CABELO PARA O CULTIVO DE FUNGOS[1]

ALBA SANCHES

Departamento de Microbiologia e Imunologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Prêto, São Paulo

Recebido para publicação em 7-10-1958

Para a classificação de cogumelos é de grande importância o aspecto morfológico do micélio e dos órgãos de frutificação. Preparados feitos a partir de culturas, muitas vêzes alteram a disposição dêsses elementos, dificultando sobremaneira o exame microscópico.

É de tôda conveniência fazer a observação em preparados em que a morfologia e os órgãos de frutificação estejam sem alterações provocadas pela montagem.

O método de Vanbreuseghem (1953) de cultura sôbre cabelo e o método de cultura em lâmina (Sabouraud, 1910) foram usados para o estudo de cogumelos do gênero *Phialophora* e os resultados são apresentados em paralelo com outros feitos para a identificação de dermatófitos.

MATERIAL E MÉTODOS

Método de cultura em lâmina

a) Meio de Sabouraud glicosado com 8% de agar.

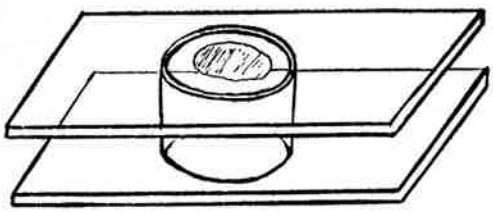

Figura 1. Cultura em lâmina.

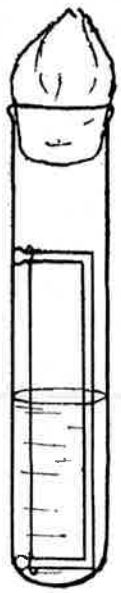

Figura 2. Cultura sôbre cabelo.

b) Um anel de vidro de aproximadamente 20 mm de diâmetro por 15 mm de altura é prêso a uma lâmina com bálsamo do Canadá; no interior da célula, assim preparada, é colocada água suficiente para encher um têrço da célula.

c) Deposita-se, na face inferior de uma lâmina esterilizada por flambagem, com o auxílio de uma pipeta, uma gôta do meio de cultura liquefeito por aquecimento, espalhando-se por uma área de aproxima-

[1]Apresentado na Reunião Conjunta da SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA e SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, em 11-7-1958, São Paulo.

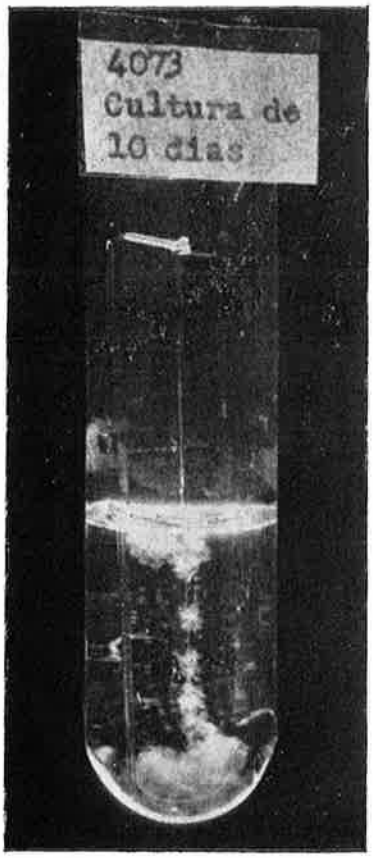

Figura 3. Cultura de **Phialophora pedrosoi** sôbre cabelo.

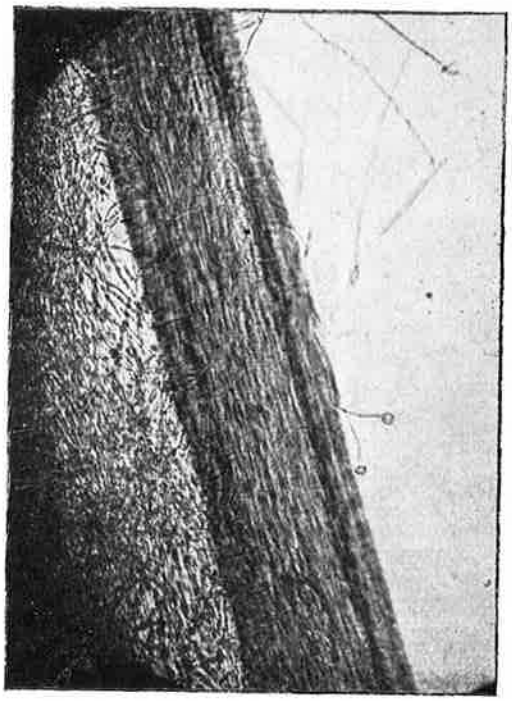

Figura 4. Cultura de 60 dias de **Trichophyton rubrum** sôbre cabelo. 218X.

damente 15 mm de diâmetro. Semeia-se, com o auxílio de uma agulha, o inóculo, tão pequeno quanto possível, e, então, a lâmina é posta sôbre o anel de vidro, com o meio voltado para baixo (figura 1).

d) As culturas são incubadas a 30°C e examinadas diàriamente; quando o crescimento é julgado conveniente, as lâminas são retiradas do anel e sêcas em estufa a 37°C por 24 horas. A cultura é montada em lactofenol azul de algodão para observação microscópica.

Método de cultura em cabelo

a) Um tubo capilar é dobrado em C, tendo o ramo vertical aproximadamente 7 cm de comprimento dobrado em ângulo reto em dois ramos menores, de 1,5 cm. O cabelo, prêso nas duas extremidades do suporte por meio de nós recobertos por uma gôta de colódio, é colocado em um tubo contendo água destilada em volume suficiente para mergulhar metade do cabelo. Os tubos fechados com algodão são esterilizados em autoclave durante meia hora a 120°C e conservados em geladeira até o momento do uso (figura 2).

b) A semeadura é feita depositando-se na superfície da água um fragmento da cultura isolada em meio de Sabouraud e incubada a 30°C; quando o crescimento é observado a ôlho nu, o cabelo é retirado e montado entre lâmina e lamínula com cloral-lactofenol de Amann para exame microscópico.

Os dois métodos foram experimentados com 7 cepas de 4 espécies de fungos: *Trichophyton rubrum, Sabouraudites canis, Epidermophyton floccosum* e *Phialophora pedrosoi* (Coudert, 1955).

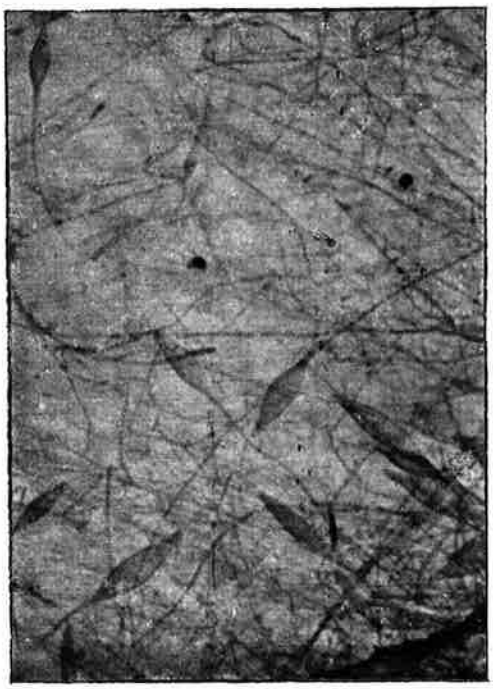

Figura 5. Cultura de 6 dias de **Sabouraudites canis** em lâmina. 272X.

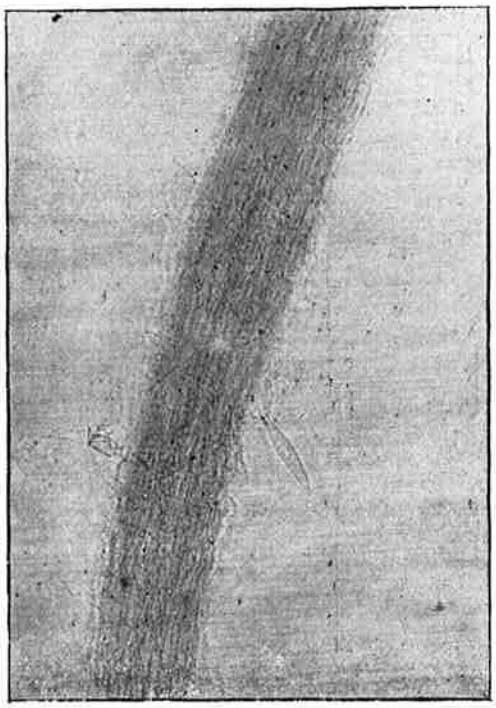

Figura 6. Cultura de 60 dias de **Sabouraudites canis** em cabelo. 230X.

Figura 7. Cultura de 10 dias de **Phialophora pedrosoi** em cabelo. 816X.

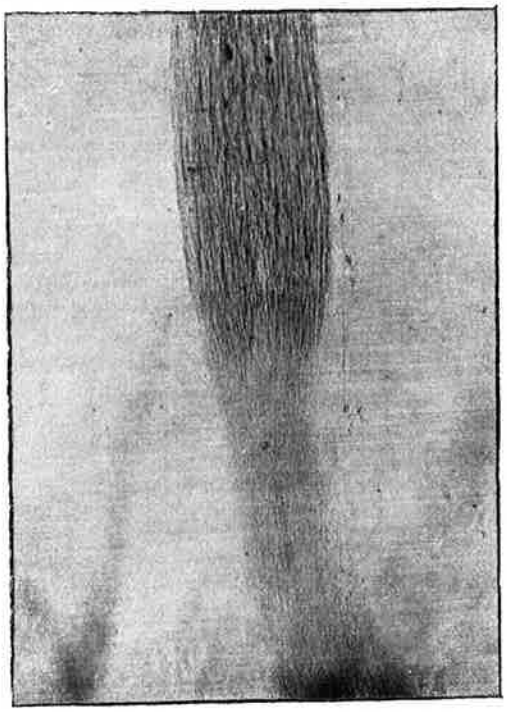

Figura 8. Cultura de 60 dias de **Sabouraudites canis** em cabelo. 95X.

RESULTADOS

Após 4 dias, o desenvolvimento do fungo já é visível macroscòpicamente tanto na cultura em lâmina como na cultura em cabelo (figura 3). Os órgãos de reprodução podiam ser observados de 7 a 10 dias e clamidosporos em 60 dias na cultura em cabelo (figura 4).

As culturas de dermatófitos em lâmina eram mais ricas em órgãos de reprodução do que as em cabelo (figuras 5 e 6), enquanto que as duas cepas de *Phialophora* mostraram maior desenvolvimento dos órgãos de reprodução na cultura em cabelo (figura 7).

Algumas cepas de dermatófitos, estudadas em cultura em cabelo, provocaram lesões do mesmo, com desaparecimento da cutícula, atrofia e disjunção das fibras constituintes da córtex (figuras 6 e 8).

Essas lesões foram produzidas por *T. rubrum, S. canis* e *E. floccosum*. Não foi observada relação entre tipo de lesão e espécie de fungo cultivado, pois muitas vêzes uma mesma espécie provocava tipos diferentes de lesões.

As cepas de *P. pedrosoi* não alteram a estrutura do cabelo.

O método de cultura em cabelo é recomendado não só para o estudo dos dermatófitos como também para *P. pedrosoi*, pela facilidade com que podem ser montadas e observadas suas culturas.

SUMMARY

Observations on the use of hair for the cultivation of fungi

Slide and hair culture methods were tested with several species of fungi including dermatophytes and strains of *Phialophora pedrosoi*.

Lesions in the hair were found without any relation with the causative fungi species. *P. pedrosoi* grows on the hair, without any detectable lesion.

The hair culture technic was found very useful in the demonstration of reproductive mycelium and the author recommends it for the routine identification of fungi.

BIBLIOGRAFIA

COUDERT, J. Guide pratique de Mycologie medicale. Masson et Cie., ed., Paris, 1955, 364 págs.

RAUBITSCHEK, F. Preliminary and short report *in vitro* invasion of hair by dermatophytes. A preliminary report. J. Invest. Dermat., 1957, *29*(3):161-164.

SABOURAUD, R. Les teignes. Masson et Cie., ed., Paris, 1910: 584-587.

VANBREUSEGHEM, R. & TRITSMANS, E. Culture des dermatophytes en cheveux isolés *in vitro* en milieux liquides. Compt. Rend. Soc. biol., 1953, *147*: 736-739.

REV. BRAS. MICROB.,
1959, *1* (1):9-14

INFLUÊNCIA DO SILICATO SÔBRE O CRESCIMENTO DO *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*[1]

PEDRO FONTANA JR. e LAERTE DE ANDRADE

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

Recebido para publicação em 19-1-1959

A ação da sílica sôbre a biologia do *Mycobacterium tuberculosis* tem sido objeto de controvérsia entre os pesquisadores que têm estudado o assunto. Foi visando esclarecer matéria de tal importância que foram feitas as presentes investigações.

A constatação da existência de silício nas cinzas de culturas de *M. tuberculosis* foi feita por Schweinitz & Dorset, em 1898. Posteriormente, Siebert (1909), em estudos comparativos, encontrou maior teor de ácido silícico no caldo peptonado do que nos bacilos cultivados no mesmo caldo com glicerina.

A sílica como fator de crescimento para o *M. tuberculosis* foi julgada de pouco valor por Sauton (1912) em seus estudos sôbre nutrição mineral do bacilo da tuberculose. Essa afirmação de que a sílica não é elemento dos mais importantes para o crescimento do *M. tuberculosis* foi confirmada por Frouin & Guillaumie (1928).

Em 1932, Price observou que o silicato de sódio e o ácido silícico na diluição de 1:10.000 favoreciam o crescimento do bacilo da tuberculose, o que não foi confirmado por Villanova & Canalis (1935), por Balzac & cols. (1940) e por Roche (1944). Price, trabalhando com sílica solúvel em meio sólido, demonstrou a influência da concentração de sílica sôbre o período de latência da cultura e do número de colônias de *M. tuberculosis*. Entretanto, Rich (1946) julga importante para a confirmação dêsses resultados a eliminação do fator sílica do vidro nas experiências de laboratório, o que parece não haver sido ainda realizado.

Ao mesmo tempo, observações *in vivo* foram feitas demonstrando a importância do silício na incidência da tuberculose em indivíduos com silicose. São de Kuehn (1920) e de Kadisch (1922) os primeiros principais trabalhos. Uma explicação puramente mecânica para o fenômeno foi dada por Gye & Kettle (1922) e por Gardner (1923) para a patogenia da silicose. Entretanto, por não ser muito convincente, surgiram hipóteses admitindo a atividade química do ácido silícico como responsável.

Experiências importantes foram feitas por Kettle (1924), por Dowd (1935) e por Vorwald & Delahant (1938), demonstrando que o silício diminui a resistência dos ratos à tuberculose. Os bacilos virulentos injetados no sangue localizam-se nas áreas silicóticas, o que não ocorre em áreas atingidas por outras substâncias irritantes (Gardner, 1935). Os bacilos avirulentos também passam a ter localização em áreas silicóticas distantes, embora sem exaltação da virulência. A questão da virulência do bacilo da tuberculose após a passagem em animais silicóticos foi estudada por Cummings (1935), não tendo sido observado aumento da virulência das culturas isoladas dêsses animais.

A sílica na forma solúvel produz lesões mais intensas do que outras substâncias irritantes, favorecendo, assim, o desenvolvimento de lesões típicas de tuberculose; após a injeção de bacilos, há o aparecimento da lesão tuberculosa nas áreas silicóticas. Rich (1946) também acha que a sílica não tem efeito mecânico, tendo sido

---

[1] Apresentado na Reunião da Seção do Rio de Janeiro da SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA, em 4-11-1957.

observada até certa similaridade entre as lesões nos tecidos, produzidas por sílica e pelo *M. tuberculosis*. Estudos epidemiológicos revelam maior incidência de tuberculose em mineiros silicóticos, sendo que as formas brandas complicam-se pela tuberculose em menor extensão.

De acôrdo com as novas teorias, o ácido silícico seria o responsável pela formação do tecido silicótico. A parte solúvel das partículas de sílica determinaria a formação fibrosa, que facilitaria o desenvolvimento da tuberculose. Essa teoria, se bem que contestada por alguns, é atualmente adotada pela maioria dos autores (Holt, 1955).

O objetivo do presente trabalho é, portanto, dentro de um quadro geral de estudos do metabolismo do silício, procurar verificar a causa de discrepâncias nas conclusões de certos autores quanto à importância dêsse elemento no desenvolvimento do *M. tuberculosis* "in vitro".

MATERIAL E MÉTODOS

Material isento de sílica — Dadas as divergências já assinaladas quanto à importância da sílica existente no vidro, procuramos afastar êsse fator utilizando frascos de polietileno e preparando com o máximo cuidado as soluções e meios de cultura a serem usados.

Água bidestilada sem sílica — Usamos no preparo das soluções água bidestilada "livre de sílica" segundo processo idealizado por um de nós (Fontana, 1954). A água é bidestilada em um destilador especial, em que o tubo interno do condensador é de polietileno e o produto final recolhido e guardado em frasco de polietileno. Com êsse método foi possível obter uma água bidestilada pràticamente "livre de sílica".

Meio de cultura — No cultivo do *M. tuberculosis* foi utilizado um meio de composição química definida, segundo a conhecida fórmula de Dorset. A diluição dos ingredientes foi feita em frasco de polietileno e em água bidestilada "livre de sílica".

Amostra — *Mycobacterium tuberculosis*, var. *hominis*, Amostra Ratti, mantida em caldo glicerinado, sob a forma de crescimento em superfície.

Diluições de silicato — Ao meio de Dorset foram acrescentadas quantidades variáveis de silicato de sódio e distribuídas em frascos de polietileno e de vidro Pyrex.

Semeadura — As sementes foram véus de 10 dias em balões de caldo glicerinado. No repique foi utilizada uma alça quadrada a fim de que fôsse possível, com fragmentos de mesma superfície, obter uma uniformidade no tamanho do inóculo. Para evitar a contaminação do meio de cultura colocado nos frascos de polietileno, utilizamos uma barragem de vapor d'água em lugar da chama do bico de Bunsen. Não obtivemos contaminações.

Incubação — Estufa a 37°C por 10 dias.

Avaliação do crescimento — Ao fim de 10 dias as culturas foram mortas em autoclave a 120°C por 20 minutos. Os frascos de polietileno totalmente cheios suportaram bem a autoclavagem. Os véus foram recolhidos, lavados várias vêzes em água livre de silica, secos a 110°C por uma hora e pesados. Foram também feitas a determinação das cinzas totais e a curva do aumento percentual de cinzas em relação ao acréscimo de silicato no meio de cultura. Os resultados foram expressos: pêso sêco em gramas, cinzas em mg e concentração de sílica em SiO_2.

RESULTADOS

Importância da sílica do vidro — Primeiramente procuramos observar até que ponto a sílica do vidro, passível de ser transferida ao meio, poderia influenciar o crescimento do *M. tuberculosis*.

Experiência I — Os resultados achamse representados nas figuras 1 e 2. A curva da figura 2 representa os resultados da cultura em vidro Pyrex, expressos em cinzas totais. Há um nítido paralelismo entre o crescimento em frascos de polietileno e o obtido em vidro Pyrex.

Experiência II — *Metabolismo da sílica* — A representação gráfica dessa experiência está na figura 3; observa-se que, quando a quantidade de sílica disponível é au-

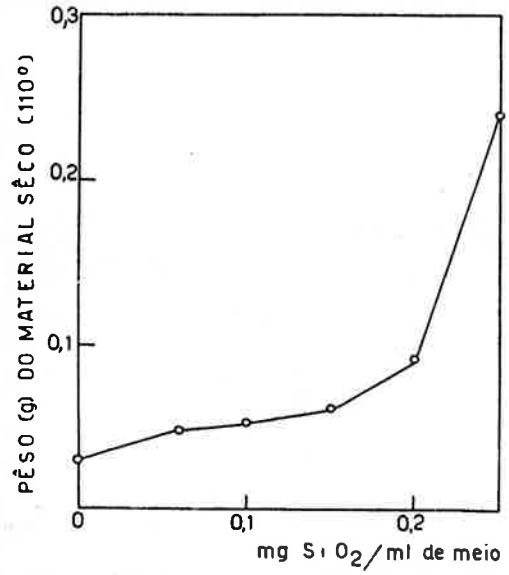

Figura 1. Curva de crescimento de **M. tuberculosis** var. **hominis**, em presença de várias concentrações de SiO_2, após 10 dias de incubação. Cultura em frascos de polietileno.

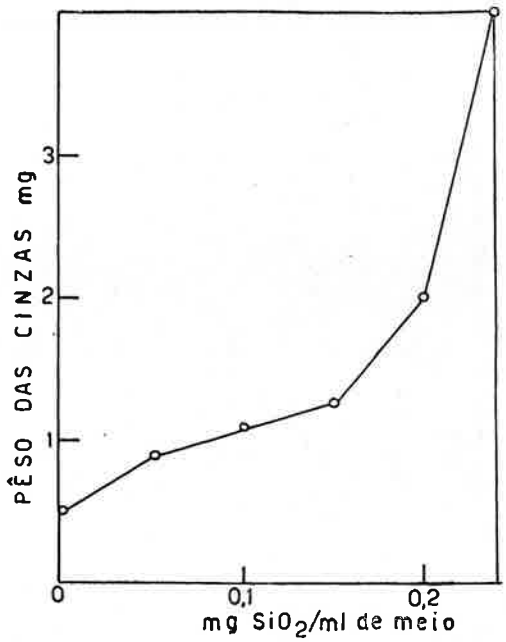

Figura 2. Curva de crescimento de **M. tuberculosis** var. **hominis**, em presença de várias concentrações de SiO_2, após 10 dias de incubação. Cultura em vidro Pyrex.

mentada, o *M. tuberculosis* metabolisa esta sílica até atingir um determinado nível de saturação. A curva representa o percentual de cinzas no pêso sêco de crescimento em face de várias concentrações de SiO_2. Nas culturas com excesso de silicato (0,16 a 0,24 mg de SiO_2/ml) obtivemos um percentual de 20 de SiO_2 nas cinzas, isto é, 0,6% em relação ao pêso sêco, ao passo que nas culturas sem sílica, ou com pequena quantidade de sílica, obtivemos 8% de SiO_2 nas cinzas ou 0,16% do pêso sêco.

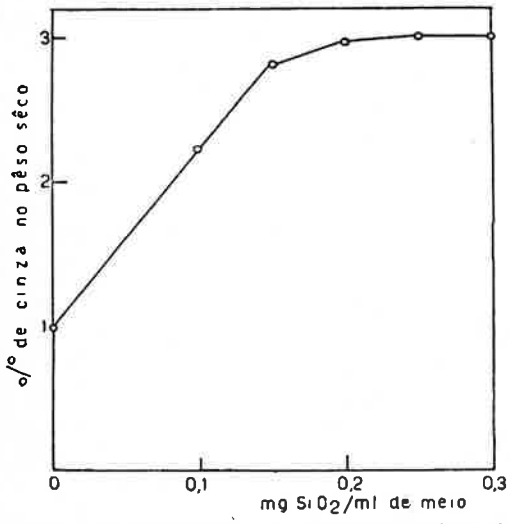

Figura 3. Percentual de cinzas no pêso sêco de crescimento de **M. tuberculosis** var. **hominis**, em presença de várias concentrações de SiO_2, após 10 dias de incubação. Cultura em vidro Pyrex.

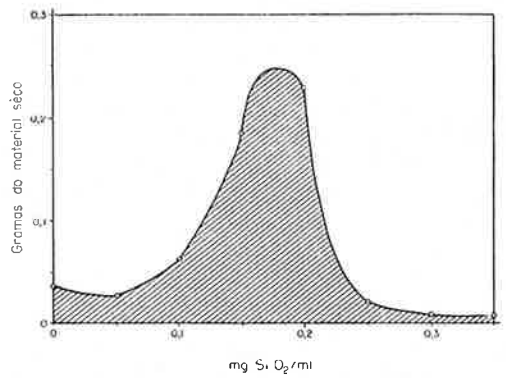

Figura 4. Curva de crescimento de **M. tuberculosis** var. **hominis**, em pesença de várias concentrações de SiO_2, após 10 dias de incubação. Cultura em vidro Pyrex.

Influência da sílica sôbre o crescimento do M. tuberculosis — Nas figuras 4 e 5 está representado o desenvolvimento do germe em face de várias concentrações de

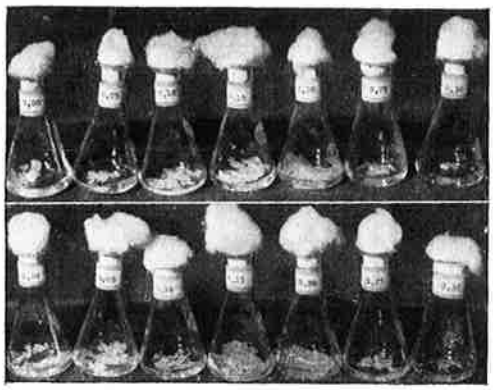

Figura 5. Fotografias de Erlenmeyrs Pyrex com véus de 10 dias de **M. tuberculosis** var. **hominis**, em presença de várias concentrações de SiO_2. Uma das séries cuja média está representada na figura 4.

SiO_2. Foi obtida uma curva normal de crescimento, na qual observa-se que a quantidade ideal para estímulo do crescimento do *M. tuberculosis* está entre 0,15 e 0,20 mg de SiO_2 por ml de meio de cultura.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A hipótese levantada por Rich (1946) de que a sílica existente no vidro poderia influenciar o crescimento do *M. tuberculosis* foi, de início, investigada. O germe foi cultivado em frascos de polietileno e em Erlenmeyer de vidro Pyrex. As diluições de sílica e o meio de cultura foram preparados com água destilada livre de sílica. Ao analisarmos os resultados, verificamos que a quantidade de sílica existente no vidro e que poderia ser transferida ao meio de cultura é mínima em relação à concentração necessária para influenciar o crescimento do *M. tuberculosis*.

Foi determinada com bastante evidência a faixa de concentração em que a sílica influencia favoràvelmente o crescimento do germe nas condições experimentais utilizadas, não ficando confirmadas as observações de Balzac & cols. (1940) e de Roche (1944). Villanova & Canalis (1935) julgaram ser a sílica até desfavorável ao crescimento do germe. Nas presentes investigações também foi observada uma ação desfavorável da sílica, porém em concentrações acima de 0,3 mg/ml, conforme se observa na figura 4.

Os presentes resultados estão de acôrdo com os estudos de Price (1932), que acha serem o silicato de sódio e o ácido silícico favoráveis ao crescimento do *M. tuberculosis*.

Sauton (1912) e Frouin & Guillaumie (1928), embora coloquem a sílica entre os elementos que não são indispensáveis ao crescimento do bacilo da tuberculose, não negam, entretanto, que êsse elemento possa influenciar o seu crescimento.

As observações *in vivo*, quer no homem, quer nos animais, vêm corroborar os resultados aqui relatados, pois é impossível negar a maior incidência da tuberculose entre os silicóticos (Lanza & Vane, 1934) do que em indivíduos expostos a outras poeiras, bem como a queda da resistência de certos animais insensíveis à tuberculose, permitindo inclusive que bacilos de baixa virulência provoquem quadros de tuberculose generalizada, embora a virulência do germe, testada posteriormente, permaneça a mesma.

O bacilo da tuberculose tem o seu crescimento influenciado pela sílica, dependendo de sua concentração nos meios de cultura. Até 0,1 mg de SiO_2/ml não há estímulo ao crescimento. Nas concentrações acima de 0,25 mg/ml o SiO_2 deixa de exercer ação favorável para ser prejudicial. Para a obtenção das curvas apresentadas foram feitas várias experiências, representando êsses resultados uma média. A figura 5 apresenta uma dessas experiências, onde podemos observar a diferença no tamanho dos véus em relação à concentração de sílica. Observa-se que no Erlenmeyer com 0,3 mg/ml o crescimento é menor do que no balão sem sílica, presumindo-se que os autores (Villanova & Canalis, 1935) que observaram ser a sílica desfavorável ao crescimento do *M. tuberculosis* tenham trabalhado com concentra-

ções de sílica fora da faixa utilizada nas presentes investigações.

Roche (1944), por exemplo, trabalhou com rocha silicosa pulverizada em meio de Löwenstein e caldo glicerinado, portanto as suas condições experimentais não foram exatamente iguais às presentes.

O diagnóstico da silicose tem sido tentado pela pesquisa de sílica no escarro ou do ácido silícico no sangue. É possível que estudos dêsse tipo possam revelar a concentração ideal de sílica no organismo que favoreça o desenvolvimento do bacilo da tuberculose. Conforme se pode verificar pelos presentes resultados, essa faixa é bastante estreita, entre 0,15 e 0,20 mg/ml. É possível que as formas brandas de silicose se infectem menos, por não terem ainda atingido essa concentração mínima exigida para boa implantação do germe.

SUMÁRIO

Estudos sôbre a importância da sílica no desenvolvimento do *M. tuberculosis* foram feitos com cuidados técnicos ainda não adotados por outros pesquisadores, tais como a utilização de água bidestilada livre de sílica no preparo dos meios de cultura. Utilizando várias concentrações de sílica em meio de Dorset, foram feitas culturas em frascos de polietileno e de vidro Pyrex. A avaliação do crescimento foi feita pela determinação do pêso sêco e das cinzas totais. A quantidade de sílica que passa para o meio de cultura proveniente do vidro não é suficiente para influenciar o crescimento do *M. tuberculosis*. Em face de várias concentrações de SiO_2, observa-se que as compreendidas entre 0,15 e 0,2 mg/ml determinam um estímulo apreciável no crescimento do bacilo da tuberculose, enquanto que as concentrações mais elevadas têm efeito prejudicial, determinando uma nítida diminuição no pêso da cultura obtida.

SUMMARY

Influence of silicate on the growth of Mycobacterium tuberculosis

The importance of silica for the growth of *M. tuberculosis* was studied with some technical details not yet employed by other workers such as the use of bidistilled water free from silica in preparing culture media, polyethylene flasks, etc.

Different concentrations of silica in Dorset medium were used to prepare cultures in flasks of polyethylene and Pyrex glass.

The growth was estimated by determining the dry weight and total ashes of the cultures.

The amount of silica derived from the flasks walls, that goes into the culture medium, is not sufficient to influence the growth of *M. tuberculosis*.

It may be observed with the use of several concentrations of SiO_2, that those between 0,15 and 0,2 mg/ml give a considerable stimulus to the growth of the tubercle bacillus; greater concentrations have a damaging effect determining a decrease of the culture weight.

BIBLIOGRAFIA

BALZAC, H. F. H.; FERNBACH, E. & RULLER, G. La silice exerce-elle une influence sur le dévélopment et la virulence du bacille tuberculeux? Bull. Acad. Med., 1940, *123*: 365-368.

CUMMINGS, D. E. A study of the types and virulence of tubercle bacilli isolated from tuberculous silicotics. Trans. 31st Ann. Meet. Natl. Tuberc. Assn., 1935: 148.

DOWD, G. R. A bacteriological study of atenuated (Rl) tubercle bacilli recovered from silicotic and normal guinea pigs. Am. Rev. Tuberc., 1935, *32*: 62-72.

FONTANA, P., JR. Studies on the deposition of silica on the leaves of the grass *Panicum maximum*. Rev. Bras. Biol., 1954: *14*: 35-40.

FROUIN, A. & GUILLAUMIE, M. Culture de bacille tuberculeux sur milieux synthetique. Essai du generalisation de la notion d'equilibre entre les elements constitutif des milieux de culture. Ann. Inst. Pasteur, 1928, *42*: 667-694.

GARDNER, L. U. Studies on the relation of mineral dusts to tuberculosis. Am. Rev. Tuberc., 1923, *7*: 344-357.

GARDNER, L. U. Pneumokoniosis. Internat. Clin. Ser., 1935, *45*, II, 15.

GYE, W. E. & KETTLE E. H. Silicosis and miners' phtisis. Brit. J. Exptl. Path., 1922, *3*: 241-251.

HOLT, P. F. Silicosis Research. J. Brit. Steel. Cast. Res. Ass., 1955, *23*: June (in separata).

KADISCH, E. Ueber das Silicium speziell die Kieselsaeure bei der Therapie der Lungentuberkulose. Beitr. Klin. Tuberk., 1922, *53*: 111-117.

KETTLE, E. H. The demonstration by the fixation abscess of the influence of silica in determining *B. tuberculosis* infections. Brit. Jour. Exp. Path., 1924, *5*: 158-164.

KUEHN, A. Zur methodik der Kieselsaeuredarreichung bei Lungentuberkulose. Muench. Med. Woch., 1920*a*, *67*: 253-255.

KUEHN, A. A Neue Probleme in der behandlung der Lungentuberkulose mit besonderer Beruecksichtigung der Kiselsaure. Frage. Zeit. Tuberk., 1920*b*, *32*: 320-329.

LANZA, A. J. & VANE, R. J. The prevalence of silicosis in the general populations and its effects upon the incidence of tuberculosis. Am. Rev. Tuberc., 1934, *29*: 8.

PRICE, R. M. The influence of silica upon the growth of the tubercle bacillus. Can. J. Res., 1932, *7*: 617-621.

RICH, A. R. Patogenia de la tuberculosis. Editorial "Alfa", B. Aires, 1946.

ROCHE, L. Influence des poussières minérales sur la culture du bacille de la tuberculose. Compt. Rend. Soc. Biol., 1944, *138*: 555-556.

SAUTON, B. Sur la nutrition minerale du bacille tuberculeux. C. R. Acad. Sc., 1912, *155*: 860-861.

SCHWEINITZ, E. A. VON & DORSET, M. The mineral constituents of the tubercle bacilli. Centralbtl. f. Bakt., 1898, *23*: 993-995.

SIEBERT, C. Zur Biologie der Tuberkle bacillen Centralbtl. f. Bakt., 1909, *51*: 305-320.

VILLANOVA, R. R. & CANALIS, J. P. Contribution à l'étude du rôle que le silicium semble jouer dans l'immunité contre la tuberculose pulmonaire. Bull. Acad. Med., 1935, *113*: 257-259.

VORWALD, A. J. & DELAHANT, A. B. The influence of silica on the natural and acquired resistance to the tubercle bacillus. Am. Rev. Tuberc., 1938, *38*: 347-362.

REV. BRAS. MICROB.,
1959, *1* (1):15-18

APLICAÇÃO DO MÉTODO DE "REDUÇÃO DE HEMOGLOBINA" À DETERMINAÇÃO RÁPIDA DA SENSIBILIDADE DE BACTÉRIAS A ANTIBIÓTICOS EM SERVIÇOS DE ROTINA HOSPITALAR[1]

RUBENS ROCHA VIEIRA

Departamento de Microbiologia e Imunologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Prêto, São Paulo

Recebido para publicação em 7-10-1958

Resultados de sensibilidade de germes isolados em exames de rotina de material hospitalar têm o seu valor desde que executados com precisão e o resultado ràpidamente enviado ao clínico. Tendo em vista êsse objetivo, nossa atenção foi atraída pela técnica de Jackson & Cols. (1954), que utilizam a redução da hemoglobina, no meio de cultura, como indicador do metabolismo bacteriano, oferecendo vantagens de rapidez de leitura sôbre a técnica de 24 horas. Testes foram realizados simultâneamente pela técnica dêsses autores e pela técnica clássica; os resultados precoces da primeira foram comparados aos da segunda.

MATERIAL E MÉTODOS

Discos — Discos de 8 mm de diâmetro, cortados com vasador (Jackson & cols., 1954), em papel de filtro Selecta n.º 5.892 S-S, são espalhados em placa de Petri forrada com celofane, autoclavados por 20 minutos a 121ºC e levados ao dessecador (drierite) sob vácuo, por 24 horas. Grupos de 100 discos são mergulhados em 1 ml de solução de antibiótico (Gould & Bowie, 1957), cada disco absorvendo em média 0,01 ml do líquido (Vieira). Os discos úmidos são postos novamente em placas estéreis forradas com papel celofane e levados ao dessecador (drierite) sob vácuo, por 24 horas. Os discos secos, prontos para usar, são guardados em frascos com tampa de rôsca, no refrigerador.

Antibióticos — Clor-tetraciclina (100 mcg), Cloranfenicol (100 mcg), Dihidroestreptomicina (200 mcg), Penicilina (10 unidades), Oxi-tetraciclina (20 mcg) e Novobiocina (62,5 mcg) são os antibióticos e respectivas quantidades por disco, usados nas determinações de sensibilidade (Stokes, 1955).

Discos preparados com êsses antibióticos foram experimentados com os seguintes germes: *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, E. freundii, Paracolobactrum coliforme, P. aerogenoides, Aerobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Salmonella sp., Shigella sp., Proteus morganii, P. mirabilis* e *Achromobacterium sp.* (Breed & cols., 1957).

Meio de cultura — O meio básico constituído por tripticase soja agar (BBL) é preparado, resfriado a 45ºC, adicionado de 20% de sangue humano e distribuído em placas de Felsen, de 10 cm de diâmetro, em quantidades medidas de 1,8 ml de meio por quadrante.

O meio dextrosado a semear é o tripticase soja agar com 0,25 de dextrose (Bass & cols., 1957*b*); êsse meio é fundido, resfriado a 45ºC, semeado com o germe a examinar, agitado para misturar e derramado sôbre as placas contendo o meio

---

[1] Trabalho realizado com recursos fornecidos pelo Laboratório Upjohn do Brasil. Apresentado na Reunião Conjunta da SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA e SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, em 11-7-1958, São Paulo.

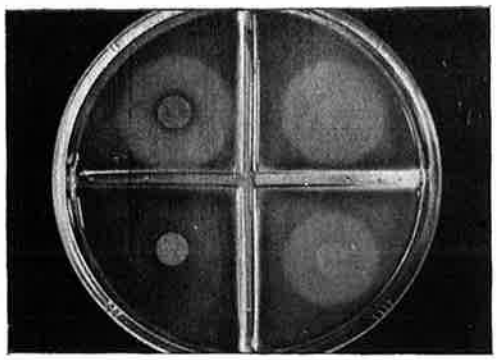

Figura 1. Técnica de redução de hemoglobina; leitura após 6 horas.

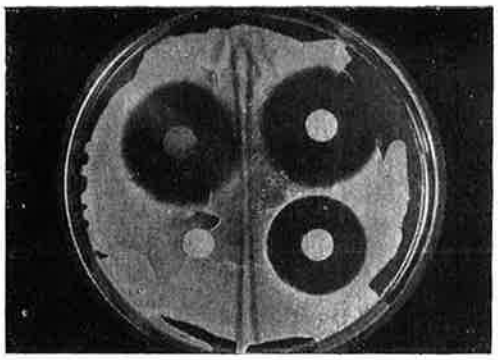

Figura 2. Técnica de cultura; leitura após 24 horas.

TABELA I

Resultados obtidos em estudo comparativo dos métodos de sensibilidade aos antibióticos com 11 amostras de Staphylococcus aureus

Resultados / Antibiótico	Concordantes	Discordantes	Diâmetro médio em mm das áreas obtidas: em 6 horas	em 24 horas
Clor-tetraciclina (Lederle)	11	0	25,5	26,10
Cloranfenicol (Lafi)	11	0	25,1	26,7
Dihidro-estreptomicina (Rhodia)	11	0	14,1	16,0
Penicilina (Rhodia)	10	1	14,7	17,0
Oxi-tetraciclina (Pfizer)	11	0	22,0	21,6
Novobiocina (Upjohn)	11	0	23,8	19,1

básico, de modo a obter uma camada de 1,2 mm de espessura (Gould & Bowie, 1957) sôbre o meio básico. Após solidificar, as placas são deixadas secar na estufa por 1/2 hora com a tampa entreaberta. Os discos contendo antibiótico são então colocados na superfície do meio semeado. As placas são examinadas para verificar a presença de áreas, em redor do disco, onde a hemoglobina se mostra menos reduzida que o restante da placa. As áreas encontradas são medidas e os valores são assim interpretados:

a) áreas até 11 mm de diâmetro = insignificantes = nenhuma inibição;

b) áreas de 12 mm ou mais = significativas = inibição presente, antibiótico eficaz (Lind, 1953); resultados após 6 horas e após 24 horas podem ser comparados observando a tabela I e as figuras 1 e 2.

RESULTADOS

Os resultados, obtidos em 28 pares de determinações de sensibilidade a antibióticos pela técnica de Jackson & cols. (1954), em 6 horas ou menos de observação, foram confirmados pela técnica de 24 horas. Por sua mais rápida leitura, o método está sendo utilizado no Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Prêto, em exames de rotina.

SUMÁRIO

A redução da hemoglobina humana pela respiração das bactérias, semeadas na massa do meio de cultura, permite verificar o efeito de antibióticos sôbre o metabolismo microbiano. O método utilizado foi o de Jackson & cols. (1954) que permite definir o espectro da sensibilidade às substâncias antibacterianas dentro de 4 a 6 horas, o que muito o recomenda para trabalho de rotina hospitalar.

SUMMARY

The use of hemoglobin reduction method for detection of sensivity to antibiotics in routine hospital work

Results obtained in comparison tests performed for detection of sensitivity to antibiotics, by the hemoglobin reduction method of Jackson & Cows. (1954) and by the 24 hours growth inhibition test, confirmed the previously related work.

The reduction method permits results in few hours and is highly suitable for hospital work in the detection of bacterial sensitivity to antibiotics. For this purpose the method has been employed in the Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Prêto.

BIBLIOGRAFIA

BASS, J. A.; ENGLEY, F. B., JR.; MITCHELL, R. B. & BLOCKER, T. G., JR. Evaluation of a rapid (hemoglobin reduction) method for determining antibiotic susceptibility of microorganisms. I. Preliminary evaluation using stock organisms. Antibiotics & Chemother., 1957*a*, 7 (3): 140-145.

BASS, J. A.; ENGLEY, F. B., JR.; MITCHELL, R. B. & BLOCKER, T. G., JR. Evaluation of a rapid (hemoglobin reduction) method for determining antibiotic susceptibility of microorganisms. II. Modifications in technique. Antibiotics & Chemother., 1957*b*, 7 (4): 160-165.

BASS, J. A.; ENGLEY, F. B., JR.; MITCHELL, R. B. & BLOCKER, T. G., JR. Evaluation of a rapid (hemoglobin reduction) method for determining antibiotic susceptibility of microorganisms. III. Application to clinical specimens pyogenic, gastrointestinal and miscellaneous infectious processes. Antibiotics & Chemother., 1957*c*, 7 (4): 166-171.

BREED, R. S.; MURRAY, E. G. D. & SMITH, N. R. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Williams & Wilkins, Baltimore, 7th ed., 1957, 1044 págs.

GOULD, J. C. & BOWIE, J. H. The determination of bacterial sensitivity to antibiotics. Edinburgh M. J., 1957, *59*: 178-199.

JACKSON, J. L. W.; DYE, W. E. & MITCHELL, R. B. Use of hemoglobin in-

dicator for rapid method of determining antibiotic sensitivity of microorganisms. Texas Rep. Biol. & Med., 1954, *12*: 171-172.

LIND, H. E. The rationale of routine antibiotic sensitivity determinations. Antibiotics & Chemother., 1953, *3* (7): 672-676.

STOKES, E. J. Clinical Bacteriology. Edward Arnold, Londres, lst ed., 1955: 152-156.

VIEIRA, R. R. Nota técnica sôbre o preparo de discos de papel para teste de antibióticos. Em publicação.

REV. BRAS. MICROB.,
1959, *1* (1):19-23

SALMONELLA KENTUCKY. SUA OCORRÊNCIA EM BOVINOS, NO BRASIL

VICENTE LEITE XAVIER

Escola Nacional de Veterinária e Instituto de Biologia Animal. Universidade Rural, Km 47, Campo Grande, Rio de Janeiro

Recebido para publicação em 13-10-1958

Em março de 1937, Edwards (1938), trabalhando em Lexington (Kentucky, U. S. A.), isola de áreas ulceradas do intestino delgado e dos cecos de um exemplar de *Gallus domesticus* um novo tipo de *Salmonella* a que chamou *S. kentucky*. Bornstein & Saphra (1942) referem a ocorrência da *Salmonella* citada em um caso de gastroenterite em *Homo sapiens*. Nesse mesmo ano, Olitzki (1942), assinala-a, na Palestina, isolando-a de homem e de camelos. Edwards & Bruner (1943) registram a ocorrência da *S. kentucky* em aves e no homem. No ano seguinte, Hinshaw & cols (1944), publicando sôbre salmoneloses aviárias e suas relações com a saúde pública, referem o isolamento da *S. kentucky*. Juntamente com três outros tipos, foi êsse microrganismo isolado de fezes humanas, por Juenker (1945). Trabalhando no Departamento de Patologia e Higiene Animal, em Urbana (Illinois, U. S. A.), Levine & cols. (1945) conseguem isolar a *S. kentucky* de fezes de porca aparentemente hígida. Seligman & cols. (1946) registram o isolamento de dez amostras dêsse microrganismo, a partir de material humano. Edwards & cols. (1948) consignam o isolamento de 56 culturas de *S. kentucky*, assim distribuídas: homem (11 culturas); peru (37 culturas); galinha (3 culturas); aves de caça (2 culturas); outras aves (1 cultura); bovino (1 cultura); suíno (1 cultura). Além disso, assinalam a ocorrência da mesma *Salmonella* em faisões e ema. Buxton & Field (1949) referem que a encontraram em bovinos e aves. Watt & De Capito (1950) reconhecem a *S. kentucky*, ao examinarem material de bovino, e Galton & cols. (1950) isolaram-na de cão, na Flórida. Saphra & Marquez (1952) consideram a *S. kentucky* relacionada com quadro de pneumonia em *Homo sapiens*. Bynoe & cols. (1953) registram a ocorrência da *Salmonella* em aprêço, no Canadá, ao apresentarem uma lista de "tipos" identificados nesse país. Mann, Saphra & Hudson (1953) registram o isolamento da mesma, mediante culturas de gânglios linfáticos de cães procedentes de New York e suas cercanias. Byrne & cols. (1955), pesquisando *Salmonella* em ovos e outros produtos alimentícios, isolam, além de outras, a *S. kentucky* que foi identificada por Galton & Hardy.

MATERIAL E MÉTODOS

Recebemos da Seção de Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal um osso metacarpiano, o coração e os pulmões de um exemplar de *Bos taurus*, mestiço guernesey, com 2 meses de idade, do sexo masculino, procedente de uma fazenda do Estado do Rio de Janeiro. Sabia-se que o animal havia adoecido (?) três dias antes daquele (20-4-1955) em que era enviado, morto, ao Instituto, para necrópsia. No segundo e terceiro dias da doença (?) o animal recebera uma dose de 400 mil unidades de penicilina. A Seção competente registrou lesões anátomo-patológicas de anaplasmose, além de ter observado o *Anaplasma marginale* em esfregaços de sangue visceral. Assinalou, também, ligeira congestão das porções marginais do pulmão esquerdo.

Uma vez em nossas mãos, o citado material foi tratado como passamos a expor. Devidamente triturados, fragmentos de

pulmão e de medula óssea foram, separadamente, semeados nos meios de Kauffmann (modificação do tetrationato de Mueller) e de Kristensen & cols. Fêz-se também semeadura do sangue cardíaco nos referidos meios. A incubação dêstes a 37°C originou, em 24 horas, crescimento bacteriano nos tubos e placas. Nestas, a aparência era de cultura pura de um microrganismo incapaz de atacar os açúcares do meio e que produzia colônias com o aspecto que, vegetando nas mesmas condições, apresentam os componentes do gênero *Salmonella*. Algumas dessas colônias, tomadas das três placas, devidamente suspensas em uma gôta de salina, deram aglutinação positiva (prova rápida), quando misturadas ao conteúdo de uma alça de platina (3 mm de diâmetro) de um sôro polivalente para reconhecimento de *Salmonella*. De cada placa tomaram-se duas colônias que foram, individualmente, semeadas em tubos de tríplice açúcar ferro modificado (T S I). No mesmo dia, as culturas do meio de Kauffmann foram plantadas em Kristensen, sendo as placas incubadas a 37°C. Na manhã do dia imediato, os tubos de T S I (alcalinização na parte inclinada, ácido e gás na porção em pé, presença de H_2S) e as novas placas de Kristensen (ausência de fermentação) ofereciam culturas e colônias com característicos de *Salmonella*.

Novas provas sorológicas rápidas, com antigênios preparados a partir da vegetação dos tubos e das placas, confirmaram a idéia de se tratar de um representante do gênero *Salmonella*. Selecionamos, então, um dos tubos de T S I e suspendemos o conteúdo de uma alça de platina do crescimento bacteriano em uma porção de salina, preparando, assim, antigênio de concentração conveniente para provas rápidas, visando a determinação do grupo sorológico da salmonela em estudo. Isto feito, registramos aglutinação com o sôro VIII, aglutinação rápida e total com o sôro (VIII) XX e com o fator puro XX. Com os demais soros somáticos, as reações foram insignificantes ou inteiramente negativas. Re-isolamento, a partir de T S I, em placas de agar simples, deu sempre colônias aglutinantes quando devidamente misturadas aos soros VIII, (VIII) XX e XX. A seguir, fizeram-se semeaduras em meios adequados, objetivando-se o estudo da morfologia, propriedades tintoriais, motilidade, bioquimismo e sorologia flagelar. Na execução das provas flagelares, procedemos, consoante o esquema, à pesquisa dos fatôres: *g, m, s; i;* z_4 z_{23}; z_4 z_{23}; z_6 e *6*. Em menos de dez minutos notamos nítida aglutinação com o fator *i* e, meia hora mais tarde, reação típica com o sôro z_6. Os demais tubos permaneciam negativos. Dêste modo orientados, repetimos a pesquisa dos antigênios somáticos mediante provas lentas (soros VIII e XX puros), tendo confirmado os resultados anteriores.

Ficou, destarte, determinada a estrutura antigênica da *Salmonella* (VIII) XX: *i*: z_6. As demais propriedades e características assinaladas para a referida *Salmonella* foram: bastonetes e coco-bacilos, Gram-negativos, móveis, desprovidos de cápsulas e sem propriedade de esporular, que não hidrolisam a uréia e a gelatina; indol e V. P. negativos, H_2S e V. M. positivos. Fermentam, com produção de ácido e gás, os seguintes substratos: arabinose, ramnose, trealose, xilose, dulcitol, glicerol e inositol. Utilizam o d-tartarato, o citrato e o ácido múcico. Não atacam sucrose, lactose, salicina e adonitol.

RESULTADOS

Os característicos da *Salmonella* em aprêço levam-nos a considerá-la idêntica à *S. kentucky*, integrante do grupo C_2, do esquema White-Kauffmann.

Os soros utilizados na tipagem da estirpe de *S. kentucky* acima referida foram das seguintes procedências: "Communicable Disease Center", Atlanta, Georgia, U. S. A. (Serviço do Prof. Edwards), Escola Nacional de Veterinária (Universidade Rural, Rio de Janeiro) e Instituto de Biologia Animal (D. N. P. A., Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro).

Ao apresentarmos a fórmula antigênica da *Salmonella* em aprêço, preferimos a antiga convenção relativa aos antigênios somáticos. É mais difundida, mais conhecida.

DISCUSSÃO

Pelas informações recebidas e pela literatura que pudemos consultar, ficou-nos a idéia de que êste é o primeiro registro sôbre a ocorrência de *S. kentucky* em bovinos, no Brasil. Lamentamos não poder informar a respeito do quadro clínico do animal de cujas vísceras isolamos a referida *Salmonella*. De qualquer forma, porém, a Seção de Anatomia Patológica consigna lesões de anaplasmose e presença de *Anaplasma marginale*, além de congestão das porções marginais do pulmão esquerdo. Ora, é sabido que a tristeza bovina (piroplasmose e anaplasmose) é doença que prejudica enormemente a economia, expondo o organismo à invasão de esquizomicetos cuja infecciosidade seria limitada em condições orgânicas menos deficitárias. Alguns autores, nacionais e estrangeiros, têm observado surtos de salmonelose em animais acometidos das plasmoses. Dentre êles figuram Dupont (1922), Viljoen & Martinaglia (cit. de Dupont, 1922), Pacheco & cols. (1929), Stephan & cols. (1929), Montenegro (1929) e Henning (1949). Referindo-se ao assunto, dizia Dupont (1922): "o microscópio revela anaplasmose com destruição forte do sangue, mas a hemocultura, durante a vida, dá uma cultura pura do agente do paratifo". Em outra passagem do seu trabalho assinala: ... "os bezerros fortemente anemiados pelos carrapatos e pelas plasmoses... tornam-se mais receptivos para os germes da diarréia, pneumo-enterite (paratifo)..." Mais adiante acentua Dupont, reportando-se ao agente etiológico do paratifo (salmonelose): "germe que abunda e que se conserva por muito tempo em certas cocheiras, currais e águas paradas, escolhe o maior número de suas vítimas entre os animais atacados de plasmose..." Para Henning (1949), anaplasmose e piroplasmose figuram entre os fatôres predisponentes à infecção por *Salmonella*. Reconhece, ainda, êle: "when paratyphoid is complicated with diseases like redwater and gall-sickness (anaplasmose) or other debilitating disease, it may not be possible to decide which is the primary cause of death". Em publicação mais recente, Dupont (1953), ao escrever sôbre a chamada "Associação Babesia — Anaplasma — Salmonella (B.A.S.), afirma: "na fase final da doença, a hemocultura é positiva — geralmente de Salmonella".

Embora reconheçamos a ausência de dados essenciais para avaliarmos a importância do papel desempenhado pela estirpe de *S. kentucky* aqui referida, no episódio que acarretou a morte do animal (bezerro), justifica-se o presente registro, quando se leva em conta que esta é a primeira notificação sôbre a ocorrência dêsse "tipo" de salmonela, em bovinos, no Brasil.

AGRADECIMENTOS

Merecem os nossos agradecimentos pela ajuda direta ou indireta prestada ao presente trabalho os seguintes pesquisadores: Prof. Dr. P.R. Edwards (U.S. Public Health Service, Communicable Disease Center, Atlanta, Georgia, U.S.A.); Dr. Augusto E. Taunay (Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil); Prof. Dr. Luiz Tavares de Macedo e Dr. Jefferson Andrade dos Santos (ambos do Instituto de Biologia Animal, D. N. P. A., Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, Brasil). Reconhecemos, também, a colaboração dos colegas e auxiliares que constituem a equipe do nosso laboratório.

SUMÁRIO

Assinala-se, pela primeira vez, no Brasil, o isolamento de *S. kentucky*, mediante exame bacteriológico de órgãos e medula óssea de *Bos taurus* (bezerro). O microrganismo foi reconhecido através de provas morfológicas, culturais, bioquímicas e sorológicas. Os soros utilizados têm as seguintes procedências: "Communicable Disease Center" (Atlanta, U.S.A.; Serviço do Prof. Edwards), Escola Nacional de Veterinária (Universidade Rural, Brasil) e Instituto de Biologia Animal (Ministério da Agricultura, Brasil). O trabalho encerra algumas das principais referências bibliográficas sôbre a *S. kentucky*.

SUMMARY

Salmonella kentucky. Its occurrence in cattle in Brazil

The author reports the isolation and identification of *Salmonella kentucky*. This is the first time the organism is found in cattle, in Brazil. The calf from which *S. kentucky* was isolated presented lesions of Anaplasmosis at necropsy and *Anaplasma marginale* was recognized in visceral blood. Information about clinical data concerning the mentioned calf was very poor, so the author can not estimate the pathological behaviour of the strain of *S. kentucky* with regard to the death of the calf. In order to type the *Salmonella,* the author used sera from "Communicable Disease Center" (Prof. Edwards), Atlanta, U.S.A., and from tura), Brazil. The author acnowledges "Escola Nacional de Veterinária (Universidade Rural)" and "Instituto de Biologia Animal (D.N.P.A., Ministério da Agricul- with thanks the help and information he received from Drs. Edwards, P.R. (C.D.C., Atlanta, U.S.A.); Taunay, A.E. (Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brazil); Tavares de Macedo, L.R. and Andrade dos Santos, J. (Instituto de Biologia Animal. Brazil). He is also very indebted to the staff in his laboratory.

BIBLIOGRAFIA

BORNSTEIN, S. & SAPHRA, I. The occurrence of unusual *Salmonella* species. Jour. Inf. Dis., 1942, *71*:55-56.

BUXTON, A. & FIELD, H.I. *Salmonella* Infection in Farm Livestock. Rep. of the 14th Int. Vet. Congress. His Majesty's Stationery Office. London, 1949: 270-280.

BYNOE, E.T.; BAILEY, W.R.A. & LAIDLEY, R. *Salmonella* types in Canada. Canad. J. publ. Hlth, 1953, *44*:137-147. Resumo in The Vet. Bull., 1953, *23* (10): 449-450.

BYRNE, A.F.; RAYMAN, M.M. & SCHNEIDER, M.D. Methods for the Detection and Estimation of Numbers of *Salmonella* in Dried Eggs and other Food Products. Applied Mycrobiology, 1955, *3* (6):368-372.

DUPONT, O. Tristeza bovina no Brasil. Paratypho dos bezerros e outras afecções da primeira idade. O Banheiro Carrapaticida. Anais do Primeiro Congresso Brasileiro de Veterinária, Off. "LUZ", Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil, 1922:30.

DUPONT, O. Dados clínicos sôbre as afecções dos bezerros. Monografia. S.I.A. Ministério da Agricultura, Brasil, 1953: 32-33.

EDWARDS, P.R. A new *Salmonella* type: *Salmonella kentucky*. The Jour. Hyg., 1938, *38*(3):306-308.

EDWARDS, P.R. & BRUNER, D.W. The occurrence and distribution of *Salmonella* types in the United States. Journ. Inf. Dis., 1943, *72*(1):58-67.

EDWARDS, P.R.; BRUNER, D.W. & MORAN, A.B. The Genus *Salmonella*. Its Occurrence and Distribution in the United States. Kent. Agr. Exp. Sta. Univ. of Kentucky, 1948, Bulletin 525.

GALTON, M.M.; MC ELRATH, H.B.; STUCKER, C.L. & HARDY, A.V. Salmonellosis in Dogs in Florida. Reprint from the "Proceedings Book". Am. Vet. Med. Ass.; 87th Annual Meeting Miami Beach, 1950:117-122.

HENNING, M.W. Animal Diseases in South Africa. Central News Agency, Ltd., South Africa, 2nd. ed., 1949:235, 236, 240.

HINSHAW, W.R.; MC NEIL, E. & TAYLOR, T.J. Avian Salmonellosis. Types of *Salmonella* isolated and their relation to Public Health. Am. Jour. Hyg., 1944, *40*(3):264-278.

JUENKER ARNOLD, P. The isolation of four *Salmonella* types from one carrier. Jour. Bact., 1945, *50*:673-674.

LEVINE, M.D.; PETERSON, E.H. & GRAHM, R. Studies on Swine Enteritis. II *Salmonella* and other Enteric Organisms Isolated from Diseased and Normal Swine. Am. Jour. Vet. Res., 1945, *6*(21):242-246.

MANN, P.H.; SAPHRA, I. & HUDSON, P.B. *Salmonella* types found in the mesenteric limph glands of dogs and cats in New-York city an vicinity. The Cornell Vet., 1953, *43*:462-463.

MONTENEGRO, J. Salmonellose bovina em São Paulo. II. Estudo histopatológico. Arq. Inst. Biol., 1929, *2*:233-240.

OLITZKI, L. 1942. Citação de Wilson & Miles in Topley and Wilson's. Principles of Bacteriology and Immunity. Edward Arnold & Co., London., 3nd. ed., 1947.

PACHECO, G. & COLS. Salmonellose bovina em São Paulo. III — Estudos bacteriológicos. Arq. Inst. Biol., 1929, *2*:241-272.

SAPHRA, I. & MARQUEZ, A.C.V. Los aspectos clinicos de las Salmonelosis. Conferência celebrada el 15 de Enero de 1952 en el Aula de la Cátedra de Bacteriologia, Escuela de Medicina de la Habana, Cuba, 1952, in Separata.

SELIGMANN, E.; SAPHRA, I. & WASSERMANN, M. *Salmonella* infections in the U. S. A. A second series of 2.000 human infections recorded by the N.Y. Salmonella Center. Repr. Jour. Imm., 1946, *54*(1):69-87.

STEPHAN, O. & cols. Salmonellose bovina em São Paulo. I. Aspectos clínico e anatomopatológico. Arq. Inst. Biol. 1929, *2*: 219-232.

WATT, J. & DE CAPITO, T. The Frequency and distribution of *Salmonella* types isolated from man and animals in Hidalgo County, Texas. The Am. Jour. Hyg., 1950, *51*:343-352.

REV. BRAS. MICROB.,
1959, *1* (1):25-26

NOVA TÉCNICA DE INDUÇÃO DE FASE PARA SALMONELAS[1]

OCTAVIO BARACCHINI

Departamento de Microbiologia, Faculdade de Farmácia e Odontologia, e Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz, Ribeirão Prêto, São Paulo

Recebido para publicação em 7-10-1958

No preparo de soros aglutinantes rotineiramente empregados para a caracterização das salmonelas, necessária é a obtenção de culturas ricas nas fases para as quais se pretende obter o sôro específico. A amostra a ser utilizada, muitas vêzes, é pobre nas referidas fases, o que nos obriga a lançar mão de recursos, cuja finalidade é enriquecê-la. Por exemplo, se a intenção é preparar um sôro aglutinante H, fase 1 da *Salmonella paratyphi B*, esta fase poderá ser induzida na amostra adicionando-se à cultura sôro H, fase 2. Êste, impedindo o crescimento abundante das bactérias em fase 2, induz o crescimento das bactérias em fase 1.

Com referência ao problema de indução de fase para salmonelas, poucos são os métodos descritos. Kauffmann (1950) emprega o método de Gard, que consiste em incorporar ao meio de cultura sôro imune, de maneira a obter um maior rendimento na fase desejada.

Tulloch (1939) descreve o método utilizado por Craigie, sem dúvida engenhoso e de bons resultados e que consiste na utilização de um meio semi-sólido contido num tubo de ensaio, no interior do qual é colocado um tubo mais fino e aberto em ambas as extremidades. Êsse tubo deve ter a extremidade superior 1 cm ou mais acima da superfície do meio. O sôro imune é incorporado ao meio após a esterilização dêste, porém enquanto o mesmo ainda estiver liquefeito. A semeadura da amostra é feita no tubo interno por picada superficial, e a colheita das bactérias em fase induzida após a incubação necessária é feita do lado de fora do tubo externo.

Nas pesquisas realizadas por Sherris & Baracchini (1957) em relação ao efeito quimiotáxico do oxigênio sôbre as bactérias, foi desenvolvida uma técnica na demonstração do fenômeno, cuja possibilidade de aplicação procuramos verificar na indução de fase para salmonelas.

MATERIAL E MÉTODOS

A um frasco de vidro, estéril, de aproximadamente 4 ml são adicionados:

1 ml de caldo simples
1 ml de sol. fisiológica estéril
Sôro imune (q.s.p. um título final igual a 1:50 do título aglutinante original).

A seguir, é introduzido no líquido contido no interior do frasco uma das extremidades de um tubo de aproximadamente 1 mm de diâmetro e 10 cm de comprimento e, por capilaridade, deixa-se penetrar, no interior do mesmo, a mistura de caldo simples + solução fisiológica + sôro imune até 3/4 da sua extensão. Segurando-se o tubo capilar horizontalmente, introduz-se o mesmo através de uma colônia, prèviamente experimentada ou não para a fase que se pretende induzir, de maneira a atravessar o meio de cultura contido na placa. Assim, parte da colônia com certa quantidade do meio de cultura penetram no capilar, que é então fechado com plasticina; a outra extremidade pode ser fechada a fogo ou protegida com algodão e o tubo capilar é fixado sôbre uma lâmina

[1] Apresentado na Reunião da SOCIEDADE DE MICROBIOLOGIA DE RIBEIRÃO PRÊTO (Seção Regional da SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA), em 18-8-1958.

de vidro, aproveitando a própria plasticina da base. O conjunto é levado à estufa a 37°C, por 12 a 24 horas. Após a incubação, a parte superior do líquido contido no capilar é retirada com o auxílio de um capilar mais fino e passada para uma placa de cultura e incubada por 24 horas. O crescimento bacteriano (colônias) será novamente experimentado para a verificação da indução da fase específica. De acôrdo com a necessidade, a operação pode ser repetida mais vêzes.

CONCLUSÕES

O método é recomendável na seleção de antígenos específicos a serem usados na preparação de soros imunes, pela sua extrema simplicidade e pelo reduzido consumo de soros, sempre de preparação ou obtenção difícil, além da sua absoluta eficiência comprovada pelas nossas pesquisas.

SUMMARY

New technique for phase induction in Salmonellae

A new technique for Salmonella phase induction is described. Use is made of capillary tubes containing equal parts of sterile saline solution, nutrient broth and *Salmonella* immune serum to a specific phase giving a final titre 1:50. These are stabbed through a single colony of *Salmonella*. Thus a part of the colony as well as a part of the medium go into the capillary tubes. This opening of the tube should then be closed with plasticine and the upper end closed by flame or cotton. The capillary tubes are then mounted vertically on a glass slide and incubated at 37°C for 12 or 24 hours. After this period the upper part of the liquid in the capillary tubes are taken out with a capillary pipette and inoculated on plates. The growth should be tested with specific phase serum.

Best results are obtained when the colony is selected by slide agglutination. If the colony is not poor in the phase to be induced the results will be obtained sooner and the specific phase will be prevalent.

The method is very simple and uses small amounts of type specific serum what is highly recommended.

BIBLIOGRAFIA

KAUFFMANN, F. The diagnosis of *Salmonella* types. Charles C. Thomas, Illinois, U.S.A., 1st. ed., 1950:7.

SHERRIS, J.S. & BARACCHINI, O. The chemotatic effect of oxygen on bacteria. Trabalho apresentado na 94.ª reunião da Pathological Society of Great Britain and Ireland, 1957.

TULLOCH, J.W. Observations concerning bacillary food infection in dundee during the period 1923-38. J. Hyg., 1939, 3:324-333.

REV. BRAS. MICROB.,
1959, *1* (1):27-33

A GRIPE ASIÁTICA NO RIO GRANDE DO SUL. SUA EVOLUÇÃO EM 1957/58

NEWTON NEVES DA SILVA

Instituto de Pesquisas Biológicas, Pôrto Alegre, Rio Grande do Sul

Recebido para publicação em 17-10-1958

As epidemias de influenza que periòdicamente visitam o mundo constituem, pela sua grande difusibilidade, um motivo de preocupação para as autoridades sanitárias, já que nunca se pode prever o número de pessoas que serão atingidas, nem a gravidade com que se apresentará em uma determinada população. As pandemias de 1889 e 1918, com seus elevados índices de morbidade e letalidade, são expressivos exemplos para os que estudam a epidemiologia da gripe.

Após os estudos de Smith & cols. (1933), usando furões como animais de experimentação, ficou firmemente estabelecido que a influenza era produzida por um vírus. Êsses mesmos autores revelaram a presença de anticorpos neutralizantes no sôro dos convalescentes. Em 1940, Francis e Magill (Francis, 1940; Magill, 1940), trabalhando independentemente, isolaram de casos típicos de influenza uma amostra de vírus que se afastava imunològicamente da descrita por Smith & cols. (1933). Convencionou-se, então, que o primeiro microrganismo descrito fôsse denominado *vírus A* e o segundo, *vírus B*. Posteriormente, mais dois tipos foram descritos, o *vírus C*, por Taylor (1949), e o *vírus D*, por Jensen (1957).

O mais importante e, conseqüentemente, o mais estudado é o vírus A, responsável pelas grandes epidemias que com freqüência assolam o nosso globo. O vírus B determina infecções esporádicas ou subclínicas e raramente pequenos surtos. Os vírus C e D só foram encontrados em casos isolados, não apresentando, por enquanto, maior interêsse para a saúde pública.

Uma das características do vírus A são as mutações que é capaz de sofrer, com o aparecimento de novas raças, imunològicamente distintas.

A origem dessas mutantes parece ser a seguinte: a virulência do microrganismo é consideràvelmente reduzida pelas passagens através de organismos parcial ou totalmente imunes. Para sobreviver, o vírus sofre transformações em sua constituição antigênica. Surge um novo antígeno, frente ao qual não existem anticorpos específicos. A mutação se faz progressivamente, em passagens sucessivas por pessoas imunes. A nova raça, em seguida, torna-se dominante, enquanto a anterior passa a sobreviver precàriamente em comunidades isoladas e, por fim, desaparece ou se adapta a algum animal doméstico. A ocorrência de epidemias pode, assim, ser explicada, pelo menos em parte, na base de uma elevação ou declínio de pessoas suscetíveis, frente à amostra de vírus circulante (Van Rooyen, 1948).

Cada nova raça tem um "reinado" de 10 a 15 anos. Assim, em 1918, tivemos a "raça suína", que perdurou até 1933. Em 1934 surgiu a "PR8", que circulou até 1946, quando foi substituída pela "FM1" ou "A primo". O Centro Internacional de Influenza, órgão que recebe amostras de vírus isoladas em todo o mundo, notou, a partir de 1956, o aparecimento de raças que iam se afastando da que era até então dominante. Êsse Centro chegou mesmo a prever o surgimento de uma nova mutante que substituiria a FM1.

Confirmando as previsões, apareceu, em abril de 1957, em Hong Kong e Singapura, uma epidemia de influenza, logo de-

nominada "gripe asiática", cujo vírus constituia um novo tipo sorológico e foi denominado A/Ásia/57, significando, respectivamente, o tipo de vírus da influenza, o local e o ano do primeiro isolamento.

Uma epidemia de influenza por vírus A costuma evoluir em ondas, com um ciclo de 8 meses a 2 anos, passando duas ou mais vêzes pela mesma localidade, até que uma grande maioria da população fique imunizada. A epidemia de 1918 evoluiu em três ondas maiores, além de pequenos surtos nos anos subseqüentes.

Diagnóstico viro-imunológico — O vírus da influenza, cujas dimensões oscilam entre 80 a 120 milimicra, cresce muito bem em ovos embrionados de 10 a 12 dias de incubação. Não obstante, o vírus se multiplicar em todo o embrião, a maior quantidade de material infectante localiza-se nos líquidos alantóico e amniótico.

Algumas horas antes do aparecimento dos primeiros sintomas, o vírus já se acha presente no naso-faringe, em quantidade considerável. É a grande fonte de disseminação da doença. Raramente o vírus, é isolado após a cura clínica.

O diagnóstico da influenza é feito inoculando-se material recolhido do naso-faringe em ovos embrionados, por via amniótica. Para se constatar se um líquido alantóico ou amniótico contém vírus da influenza, recorre-se à prova da hemaglutinação. Primeiramente descrita por Hirst, ela se baseia na propriedade que tem tal microrganismo de se adsorver à superfície das hematias de vários animais (as mais usadas são as de homem, grupo O, e de galinha), determinando sua aglutinação (figura 1).

As pessoas infectadas com o vírus da influenza apresentam em seu sôro anticorpos capazes de inibir essa hemaglutinação. O teor dêsses anticorpos varia com a raça de vírus infectante. Com a raça A/Ásia/57 é, em geral, muito baixo, não excedendo de um título de 1:80 a 1:160 (Jensen, 1957). A pesquisa dêsses anticorpos em soros pares, colhidos na fase aguda e 10 dias após a cura clínica, constitui um seguro recurso diagnóstico, desde que se observe uma elevação de, no mínimo, quatro vêzes o título inicial.

Quando surge uma nova mutante, constituindo uma unidade sorológica, não há imunidade cruzada com os outros tipos ou

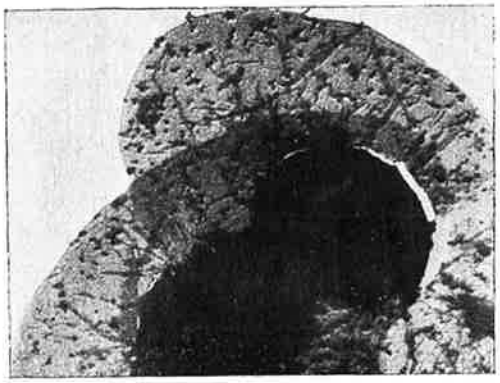

Figura 1. Vírus da influenza A/Ásia/57 (amostra Uruguaiana) adsorvido a hematias de galinha. Fotomicrografia do Instituto Butatan.

subtipos do vírus A. Por essa razão, a pesquisa de anticorpos inibidores da hemaglutinação, após uma epidemia, constitui boa prova para verificar o número de pessoas infectadas, embora algumas não tenham apresentado sintomas de infecção.

Anticorpos fixadores do complemento são revelados na convalescença. Desaparecem, porém, muito mais ràpidamente que os inibidores da hemaglutinação.

Aspectos epidemiológicos — Devido, talvez, a condições climáticas, maior disseminação da gripe asiática sucedeu no hemisfério sul. Os países do hemisfério norte foram atingidos pelo vírus, como foi demonstrado pelo seu isolamento em várias localidades, sem, no entanto, determinar epidemias extensas, limitando-se a pequenos surtos isolados.

Ao penetrar numa cidade, a influenza atinge entre 10 a 50% da população. Certo número de pessoas faz uma infecção inaparente, assintomática. A maior incidência

é sempre em crianças e em pessoas de baixo nível sócio-econômico.

A letalidade da gripe asiática foi muito baixa, com exceção das Filipinas e Chile, onde o índice alcançou 2 e 1 por mil, respectivamente. A maioria dos óbitos ocorreu em pessoas já apresentando alguma deficiência orgânica. Muito sugestivo foi o observado em Santiago, capital do Chile, e relatado por Ibiapina (1957). Antes do surto epidêmico, a mortalidade geral oscilava em tôrno de 50 óbitos diários. Durante a epidemia êse numero atingiu o triplo, alcançando a 179 no dia 6 de agôsto. Recém-finda a epidemia, o número de óbitos diários caiu para 40. Essa queda brusca pode ser interpretada como sinal de que a gripe antecipara a morte de pessoas que já se encontravam enfêrmas ou em idade limite da vida.

Com os conhecimentos e recursos técnicos atuais, nenhum país está em condições de impedir a penetração e disseminação da influenza.

A vacinação específica, preparada com o vírus homólogo, seria a única medida capaz de estabelecer uma proteção parcial numa população. Entretanto, poucos são os países capazes de dispor de vacinas em qualidade e quantidade suficientes para realizar uma imunização em massa, em tempo útil de estabelecer a imunidade. Além disso, mesmo usando vacinas contendo 200 unidades hemaglutinantes de vírus A/Ásia/57, os anticorpos só são evidenciáveis em cêrca de 50% (Travassos, 1957). Até onde corre paralela a relação anticorpos-imunidade não está estabelecido.

Em virtude do número limitado de vacinas disponíveis, todos os países ameaçados pelo surto de gripe asiática adotaram uma escala de prioridade na sua aplicação, começando pelos serviços médicos e atividades essenciais à vida coletiva.

A GRIPE ASIÁTICA NO RIO GRANDE DO SUL

I — O surto de 1957 — As constantes notícias aparecidas na imprensa diária, a partir do mês de maio de 1957, além dos informes fornecidos pela Repartição Sanitária Panamericana sôbre a evolução da epidemia no continente asiático e a possibilidade de sua disseminação através do mundo, fizeram com que o Ministério da Saúde do Brasil adotasse uma série de medidas preliminares visando alertar a população ante a eventualidade, pois era sabidamente inexeqüível obstar a penetração da pandemia em nosso país. Aquêle Ministério organizou, ao mesmo tempo, uma Comissão Nacional de Combate à Gripe Asiática, que, entre outras medidas de caráter social e assistencial, recomendou a tôdas as unidades federativas a constituição de Comissões Estaduais que planejariam as normas de caráter local.

O Diretor-geral do Departamento Estadual de Saúde constituiu, de imediato, a Comissão de Planejamento ao Combate à Gripe Asiática do Rio Grande do Sul, composta de 42 membros, representantes das mais diversas organizações que pudessem prestar o seu concurso no caso de sermos atingidos pela epidemia. Por Decreto-lei n.º 8.133, de 6 de setembro de 1957, do Governador do Estado, pelo qual foi oficializada a Comissão, as atividades dos seus membros foram consideradas como de relevante serviço público. A Comissão atuou como órgão normativo para todo o Estado e como órgão executivo em Pôrto Alegre. As principais tarefas foram atribuídas a uma Comissão Executiva, composta pelos Drs. Alfredo Hofmeister, Diretor-geral do Departamento Estadual de Saúde, Prof. Paulo Tibiriçá, Presidente da Associação Médica do Rio Grande do Sul e Dr. Augusto Bastos Filho, Delegado Federal de Saúde da 7.ª Região.

Apesar da maioria das notícias se referir à benignidade do surto epidêmico, cabia à Comissão de Planejamento tomar medidas preventivas para qualquer eventualidade, pois os informes oficiais mostravam que em determinadas regiões, por causas desconhecidas, a epidemia tinha adquirido certa gravidade, tanto pela alta morbidade, como pelo elevado número de óbitos.

Desde sua organização, a Comissão Executiva esteve em contato diário com o Ministério da Saúde, no Rio de Janeiro,

ao qual fornecia informes epidemiológicos sôbre a marcha da doença através do Estado, recebendo preciosa ajuda, tanto de ordem material, como dados técnicos e epidemiológicos de outros países, remetidos pela Divisão de Organização Sanitária daquele Ministério.

As informações remetidas pela Repartição Sanitária Panamericana, através o Ministério da Saúde, referiam que, no mês de julho, vários países da costa ocidental da América do Sul tinham sido invadidos pela epidemia, parecendo que o Chile foi o mais duramente atingido. O início da fase epidêmica naquele país ocorreu na semana de 14 a 20 de julho, atingindo o climax nos primeiros dias de agôsto. Nessa época, as notícias da imprensa já anunciavam a penetração da epidemia na Argentina.

Na última semana de julho, surgiram em Uruguaiana, cidade limítrofe com a Argentina, os primeiros casos de influenza, que tomou logo um caráter epidêmico. Com material colhido no dia 15 de agôsto naquela cidade, o Instituto de Pesquisas Biológicas do Rio Grande do Sul isolou amostras de vírus que se portaram sorològicamente idênticas à raça A/Ásia/57 (Japão/305).

Na segunda quinzena de agôsto, já se observavam casos de gripe em Pôrto Alegre, com elevada contagiosidade que permitia pensar em "gripe asiática". Isso foi confirmado no dia 1.º de setembro pelo isolamento do vírus em vários pacientes.

Nessa ocasião, vários municípios do Estado eram salpicados por pequenos surtos, principalmente os localizados na fronteira sul e oeste, como Bagé, Livramento, Alegrete e D. Pedrito.

Em 82 pesquisas que realizamos, coletando material do naso-faringe com "swab" e suspendendo-o imediatamente em 2 ml de solução de Hanks, obtivemos 18 isolamentos do vírus da influenza, o que dá uma percentagem de 21,9.

Em Pôrto Alegre a incidência de influenza foi num crescendo diário, alcançando o máximo na última semana de setembro e primeiros dias de outubro.

No comêço da epidemia, o atendimento domiciliar estava entregue exclusivamente ao SAMDU. Com o progresso da epidemia, tal serviço foi ràpidamente ampliado, de acôrdo com os planos prèviamente organizados. Grande número de postos foi instalado, onde era prestada assistência médica e medicamentosa.

Através de notas freqüentemente fornecidas à imprensa, a Comissão manteve a população tranqüila e informada da marcha da epidemia e das medidas que estavam sendo tomadas, além de orientá-la na solicitação de socorros médicos.

A partir do dia 5 de outubro, notava-se que o acme do surto epidêmico estava sendo ultrapassado. Na sessão da Comissão de Planejamento, do dia 8, todos os informes apresentados revelavam o declínio da epidemia, sendo então sugerida a supressão paulatina dos vários postos de atendimento ao público.

Quadro clínico — A marcha da doença através de uma coletividade ou dentro de um domicílio mostrou que o período de incubação foi muito curto, em média dois dias, atingindo, por vêzes, todos os membros de uma família. É de salientar-se que em grandes coletividades de adultos, como quartéis, sanatórios etc., não houve acentuada disseminação da doença e, conseqüentemente, não trouxe alteração de vulto às suas atividades.

O quadro clínico apresentado pelos pacientes foi o característico da influenza: febre de 38 a 40 graus, durando 1 a 3 dias, calefrios, mal-estar geral, dor de cabeça e dores musculares. A êsses sintomas associavam-se, com freqüência, dor de garganta, tosse sêca, coriza, congestão moderada das conjuntivas e epistaxes.

Morbidade — Os casos de gripe notificados em Pôrto Alegre à Seção de Epidemiologia do Departamento Estadual de Saúde nos meses de agôsto, setembro e outubro de 1957 elevaram-se a 43.754. Nesse período ocorreram 30 óbitos de gripe, sendo 4 em agôsto, 6 em setembro e 20 em outubro.

A verificação da extensão da epidemia, entretanto, se baseada sòmente nas comunicações às autoridades sanitárias, resultaria em dados falsos, muito aquém da

realidade, devido a duas causas principais: 1) falta de notificação por parte dos médicos; 2) benignidade da doença, permitindo que grande número de pacientes não solicitasse serviços médicos limitando-se ao tratamento sintomático com antitérmicos e analgésicos, tão largamente anunciados naquela época.

Para que tivéssemos dados mais próximos da realidade, realizamos um inquérito domiciliar e outro sorológico (Silva, 1958). O inquérito domiciliar, executado por 24 assistentes-sociais, educadoras sanitárias e alunas da Escola de Enfermagem, mostrou que 34% da população de Pôrto Alegre adoeceram de influenza durante a epidemia. O inquérito sorológico, praticado em 1.201 amostras de soros, usando a prova de inibição da hemaglutinação, revelou que 54% da população foram infectados com o vírus A/Ásia/57, tendo, assim, cêrca de 20% feito uma infecção inaparente, assintomática.

Êsses dados mostravam, então, que aproximadamente a metade dos habitantes de Pôrto Alegre continuava suscetível ao referido vírus, sem contar a pequena percentagem dos indivíduos que, certamente, perderiam sua imunidade.

II — *O surto de* 1958 — A partir do dia 15 de junho de 1958, vários serviços médicos da capital observaram um aumento progressivo dos casos de influenza, já tomando um caráter epidêmico, pois com freqüência atingia todos os membros de uma família.

No Instituto de Pesquisas Biológicas iniciamos, no dia 25 de junho, a pesquisa de vírus em doentes em fase aguda, sendo que de vinte examinados isolamos quatro amostras de vírus, que nas provas de inibição da hemaglutinação se mostraram idênticas à raça A/Ásia/57.

Nessa ocasião chegavam notícias de várias unidades sanitárias do Estado, revelando a presença de surtos gripais. Desta vez os municípios mais atingidos foram os da Encosta Inferior do Nordeste e do Sudeste e a Depressão Central, como Montenegro, São Leopoldo, Novo Hamburgo, Santo Antônio, Pelotas, Cachoeira do Sul e Canoas.

Incidência — Na epidemia de 1958 não houve notificações numéricas às autoridades sanitárias. Para que tivéssemos dados mais positivos sôbre a incidência da influenza, procuramos obter informes nos serviços médicos do SAMDU — bom termômetro para estudar epidemias — e no Hospital Militar de Pôrto Alegre (Exército).

No Hospital Militar de Pôrto Alegre baixaram 82 casos de gripe em junho e 43 até o dia 16 de julho.

Os dois postos do SAMDU de Pôrto Alegre atenderam 5.206 casos de gripe em junho e 1.550 até o dia 10 de julho, perfazendo um total de 6.756. Se os casos atendidos pelo SAMDU na epidemia de 1957 — 10.201 — foram cêrca do dôbro dos de 1958, podemos admitir que a incidência de influenza foi a metade da do ano anterior, ou seja, em 15% da população. Êsse cálculo, teórico, encontra confirmação em uma série de investigações em residências, fábricas, repartições públicas e casas comerciais.

Cabe acentuar que as pessoas que adoeceram no surto de 1958, salvo raras exceções, foram as não atingidas no ano anterior, o que vem confirmar a acentuada imunidade que tal infecção confere. Ao contrário do surto de 1957, a incidência do segundo surto parece ter sido maior em pessoas de condições sócio-econômicas médias.

As condições climáticas do Estado, em 1958, por ocasião da epidemia, afastavam-se do habitual, pois a temperatura era amena, com pouca chuva.

No inquérito sorológico realizado em 1957, enquanto no mês de outubro obtínhamos um percentual de 54,1, entre 366 soros, com um título igual ou superior a 1:10, em dezembro do mesmo ano, entre 387 amostras de sangue, aquela percentagem já tinha caído para 44,7.

Em um novo inquérito sorológico realizado em agôsto e setembro de 1958, recém-passada a segunda onda de influenza, entre 446 soros examinados, 55,36% mostraram a presença de anticorpos inibidores da hemaglutinação em título igual ou superior a 1:10.

Êstes dados são de alto interêsse epi-

demiológico, pois evidenciam que, imediatamente após a passagem de dois surtos de influenza, o número de pessoas com anticorpos evidenciáveis é pràticamente o mesmo.

Formas clínicas — Informes verbais fornecidos por grande número de clínicos relatam que os casos observados nesse surto foram um pouco mais graves que os do ano anterior, com maior número de pneumonias e bronco-pneumonias. Os fenômenos digestivos, como náuseas e vômitos, foram muito freqüentes. Em contraposição, as epistaxes, tão comuns na primeira onda, foram raras no surto de 1958.

Letalidade — Como já dissemos, na primeira onda ocorreram, em Pôrto Alegre, 30 óbitos por gripe. Na epidemia de 1958, apesar da incidência ter sido a metade da do ano anterior, ocorreram 34 óbitos até o dia 31 de julho, sendo 13 em junho e 21 em julho, a maioria nos dois extremos da vida (13 abaixo de 1 ano e 10 acima de 60).

Ao encerrarmos êste apanhado sôbre a Gripe Asiática, podemos dizer que as duas epidemias que sofremos, apesar do número elevado de pessoas atingidas, evoluiram sem pânico, não havendo acentuado abalo à vida social da coletividade.

É bem possível que nos próximos anos ainda sejamos atingidos por novos surtos de influenza, determinados pelo mesmo vírus A/Ásia/57. O número de pessoas infectadas em cada onda, no entanto, poderá ser progressivamente menor, apesar de nunca se poder prever a gravidade com que a epidemia progredirá em uma população.

SUMÁRIO

O autor tece considerações sôbre as mutações periódicas que sofreu o vírus A da influenza, até chegar à raça A/Ásia/57. Revela as várias medidas tomadas no Rio Grande do Sul pela Comissão de Planejamento ao Combate à Gripe Asiática durante o surto de 1957. Com material colhido no dia 15 de agôsto, em Uruguaiana, foram isoladas as primeiras amostras do referido vírus no Brasil. A epidemia em Pôrto Alegre atingiu cêrca de 30% dos habitantes, enquanto mais 20% fizeram uma infecção inaparente, assintomática, traduzida ùnicamente pela presença de anticorpos inibidores da hemaglutinação no seu sangue. O acme da epidemia foi na última semana de setembro e primeiros dias de outubro.

Na segunda quinzena de junho de 1958, surgiu em Pôrto Alegre nova epidemia de influenza, sendo isolado o mesmo vírus. Êsse novo surto alcançou o clímax nos primeiros dias de julho e atingiu cêrca de 15% da população. A letalidade foi baixa, tendo ocorrido sòmente 34 óbitos, sendo a maioria nos dois extremos da vida.

SUMMARY

Asian influenza in the State of Rio Grande do Sul. Its evolution in 1957/58

The author considers the periodic mutations which the influenza virus A has undergone, up to the present strain A/Ásia/57. The work done in Rio Grande do Sul by the Comission of Planning against the Asiatic Influenza, in the 1957 epidemic, is reviewed. With material collected in August 15, in Uruguaiana, the first samples of this virus were isolated in Brazil. In Pôrto Alegre, the epidemic envolved about 30% of the population, while 20% more contracted the infection but were clinicaly asymptomatic, the infection being noted only by the presence of inhibiting antibodies. The epidemics acme was in the last week of September and in the first few days of October.

In the second half of June, in 1958, a new wave of influenza ocurred in Pôrto Alegre, the same virus being isolated. Its incidence reached a peak in the first days of July and envolved about 15% of the population. The mortality was low, only 34 deaths being reported, the majority in the very young and old people.

BIBLIOGRAFIA

FRANCIS, T., JR. A new type of virus from

epidemic influenza. Science, 1940, *92*: 405-408.

IBIAPINA, A. Dados da epidemiologia da gripe no Chile. Relatório apresentado ao Ministério da Saúde e divulgado pela Divisão de Organização Sanitária, 1957.

JENSEN, K. E. A new set of type a influenza viruses. J.A.M.A., 1957, *164* (18): 2025-2029.

MAGILL, T. P. A virus from cases of influenza like upper-respiratory infection. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1940, *45*: 162-164.

ROOYEN, C. E. VAN & RHODES, A. J. Virus Diseases of Man. Thomas Nelson & Sons., ed., New York, 1948.

SILVA, N. N. DA. Dados epidemiológicos e sorológicos sôbre a incidência da gripe asiática em Pôrto Alegre. O Hospital, 1958, *53* (6): 849-953.

SMITH, W.; ANDREWES, C. H. & LAIDLAW, P. P. A virus obtained from influenza patients. Lancet, 1938, *II*:66-68.

TAYLOR, R. M. Studies on survival of influenza virus between epidemics and antigenic variants of the virus. Am. J. Pub. Health, 1949, *39*: 171-178.

TRAVASSOS, J. O vírus da gripe. Conferência no "Simpósio sôbre a gripe", Rio de Janeiro, 13-8-1957. Publicada pela Divisão de Organização Sanitária do Ministério da Saúde.

rmes — ua apli- tituições de res- ações do o Insti- foi dedi-

cado à visitação a Upsala, a Universidade mais famosa da Suécia. Houve, também, um interessante programa de visitas para as espôsas dos congressistas.

Dos brasileiros inscritos compareceram ao Congresso: Otto Bier, J. Noronha Péres, Oswaldo Cruz Filho, Gobert Araujo Costa e Gilberto G. Villela.

UTO DE MICROBIOLOGIA

e Micro- lo Brasil tório de ional de ano de senvolvi- o, resol- J.B., em corporar Microbio- Medicina

(F.N.M.) e formar um Instituto, no qual foi centralizada a maior parte do ensino e pesquisa de Microbiologia na U.B. Assim, a história do I.M. é, principalmente, a história daqueles laboratórios que lhe deram origem. Dêles, o mais antigo é o da F.N.M., fundado em 1901, ano do início do ensino da disciplina no Brasil. Ainda que durante êsses 57 anos de existência suas atividades estivessem principalmente voltadas para o ensino, alguns trabalhos

principal do Instituto de Microbiologia.

neste animal revelou pequena lesão onar de tuberculose, com presença cilos ácido-resistentes.

r outro lado, experiências de trata- feitas com o mesmo medicamento vinos de outra procedência, porta- de lesões tuberculosas avançadas, ram que os mesmos continuavam po- à prova de tuberculina, apesar do e intensivo tratamento a que esti- submetidos. A aplicação da isonia- ão parece curar as formas avançadas berculose, mas também não mascara a de tuberculina, que pode continuar utilizada assim no diagnóstico da in- , numa eventual campanha de erra- o da tuberculose bovina. Êste é o ma que o Instituto Biológico está vendo junto às granjas leiteiras sob ntrôle, o qual pretende levar a bom no decorrer dos próximos meses.

TRE A BRUCELOSE EM ES DE SUÍNOS[1]

AYAMÁ DJALMA CALDAS

ulo, S. P.

m 24-11-1958

s indivíduos tratadores de suínos feitas as provas de sôro-aglutinação rápida) e de fixação em superfície el de filtro (técnica de Castañeda). sos positivos, além do exame clínico sôro-aglutinação lenta, foi feita a ultura.

é o presente foram examinados 52 luos de 9 fazendas, havendo 12 po- (23,1%).

m o exame clínico dos positivos, es- procurando verificar se, além da se-infecção, êsses indivíduos apre- a brucelose-doença. Realmente, em (entre os 12 com reações positivas) encontrados sintomas clínicos de se, com nítida diminuição da ca- de de trabalho.

lo da SOCIEDADE BRASILEIRA

de investigação foram executados. O período mais ativo na pesquisa, todavia, foi o de 1946 a 1949, no qual foram realizados trabalhos de investigação no campo da imunologia. O Laboratório de Microbiologia da F.N.F., conforme o referido, foi fundado no ano de 1950 e, desde o início, empenhou-se em desenvolver um amplo programa de investigações microbiológicas. Para tanto, foi decisivo o apoio que recebeu do Conselho Nacional de Pesquisas e do Serviço Nacional de Tuberculose, com os quais pôde empreender os seus primeiros trabalhos. Igualmente, ao lado de investigações, êsse laboratório iniciou os cursos de especialização em Microbiologia na U.B., preparando o pessoal necessário à constituição do seu "staff".

ORGANIZAÇÃO GERAL — O Instituto é formado por 6 Divisões, às quais estão subordinados diversos serviços gerais ou laboratórios de pesquisa. Cumpre acentuar que essa organização, no tocante ao número e natureza dos laboratórios de pesquisa, não é rígida, podendo variar de acôrdo com a especialização dos pesquisadores existentes e de seus programas de trabalho. Essa versatilidade tem se mostrado bastante útil e operante, pois assim é possível ao I.M. acompanhar os progressos da especialidade, criando novos laboratórios dedicados a problemas de maior interêsse e atualidade ou modificando a orientação dos já existentes.

FORMAÇÃO DE PESSOAL — Desde 1950, quando se iniciaram as atividades do antigo Laboratório de Microbiologia da F.N.F., o recrutamento de pessoal e sua formação para o ensino e pesquisa constituem problema principal. Não há dúvida de que o trabalhador científico capacitado deve constituir a primeira etapa a ser encarada em qualquer plano de desenvolvimento de ciência e a essa orientação é que tudo foi subordinado.

No Brasil, a principal fonte de pessoal para a investigação em biologia é representada pelos que freqüentam os cursos profissionais para médicos, farmacêuticos, veterinários, dentistas etc.

Naqueles campos, portanto, é que vem sendo recrutado o pessoal que mostra interêsse para investigações microbiológicas.

O primeiro passo consiste em atrair os estudantes interessados, geralmente dos últimos anos do curso, para trabalhar no laboratório e àqueles que revelam qualidades para o trabalho científico são concedidas bôlsas de estudo, iniciando-se, então, a sua preparação de modo sistemático e, após essa fase, fazem êles o curso de especialização. Quando concluem êsse curso, realizam o seu primeiro trabalho de investigação, como pesquisadores associados.

Atingindo a êsse ponto é que são enviados ao estrangeiro. Até o momento, êsse programa já foi realizado com 11 elementos do "staff" do I.M., que receberam bôlsas para o estrangeiro da Fundação Rockefeller, da International Cooperation Administration e da Fundação Guggenheim.

O pôsto final da carreira é o de pesquisador, galgado quando o profissional está em condições de assumir a responsabilidade de uma linha de investigação.

É oportuno também referir que cada grupo de trabalho no I.M., dedicado ao estudo de um determinado problema, é formado por um pesquisador responsável, um pesquisador associado e dois estudantes em iniciação científica. Outrossim, todo o "staff" do I.M., com exceção dos estudantes, trabalha em "full time".

ATIVIDADES DE ENSINO — As atividades de ensino do I.M. são superintendidas e coordenadas pela sua Divisão de Ensino (D.E.), que é chefiada por um perito com conhecimentos de Microbiologia e de técnica educacional. As tarefas do I.M., em matéria de Ensino, são bastante complexas, já que lhe cabe ministrar ou colaborar com o ensino de quase todos os cursos da Universidade que lecionam a especialidade. Isso sòmente é possível porque o I.M. possui um amplo quadro de pesquisadores dedicados a diferentes campos de trabalho, e que participam ativamente nas tarefas de ensino, sem prejuízo das suas atividades de pesquisa.

A D.E. é formada por diversos setores, a saber: Planejamento dos Cursos (P.C.);

bacterianas. Sôbre anticorpos heterólogos, as pesquisas procedidas revelaram a existência de novos tipos de anticorpos dessa natureza na doença de Chagas e na hepatite por vírus. Em relação a reações cruzadas, procedeu-se a um estudo sôbre a natureza das reações que ocorrem com soros de grávidas e cancerosos para os Proteus 0 x 19, verificando-se que o antigênio implicado nessa reação é diferente do que reage especìficamente com antigênios riquetsianos. A respeito da ação de anticorpos sôbre a vitalidade e a viabilidade bacterianas, foi apurado que a combinação de anticorpos às células não prejudica a sua respiração nem tampouco a sua viabilidade. Em conexão com êsse problema, foi também apurado que, em certas condições, os anticorpos podem até, paradoxalmente, exercer ação protetora das células contra o efeito injuriante de substâncias bactericidas.

No Laboratório de Imunoquímica, as pesquisas têm abrangido, sobretudo, o estudo de antigênios polissacarídicos de bacilos da tuberculose. Nesse sentido, foi estabelecida uma técnica para extração com o emprêgo da formamida e estudados os antigênios obtidos do ponto de vista do seu comportamento imunológico, propriedades físicas e físico-químicas, assim como constituição química estrutural. Ainda usando êsse antigênio polissacarídico purificado, em reações de Middlebrook-Dubos, foram feitos estudos das respostas sorológicas de indivíduos sujeitos à imunização pelo BCG, pesquisa de anticorpos em líquor de pacientes com meningite e reações cruzadas em soros de calazar.

Divisão de Microbiologia Médica — Há três laboratórios, atualmente, em funcionamento nessa Divisão: Tuberculose, Enterobactérias e Cocos patogênicos.

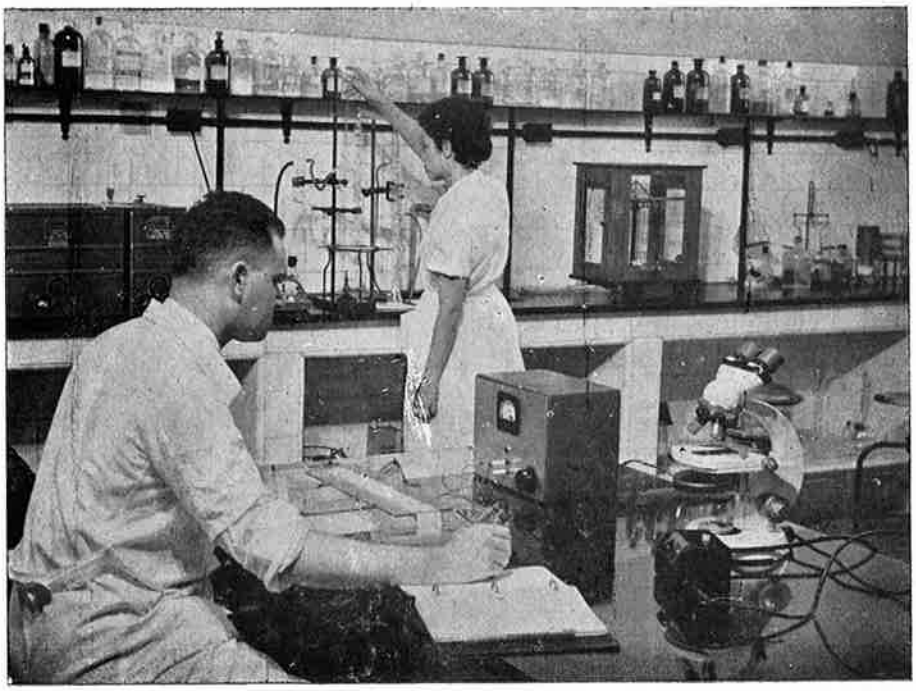

Figura 4. Laboratório de Imunoquímica.

O Laboratório de Tuberculose tem se ocupado principalmente do estudo de provas destinadas à separação de micobactérias patogênicas e saprófitas. Diversos trabalhos têm sido publicados a respeito, versando sôbre novas técnicas desenvolvidas (como por exemplo o comportamento ante a prata eletrolisada e atividade dehidrogenásica avaliada pelo TTC) e a comparação destas com procedimentos outros propostos na literatura.

Salmonella etc.), quais os tipos sorológicos predominantes. Em relação à tipagem sorológica, presta também o Laboratório colaboração com outros serviços do país, procedendo à identificação de amostras isoladas que lhe são encaminhadas. No curso dêsses trabalhos, têm sido feitos estudos comparativos, principalmente sôbre as técnicas culturais para o isolamento de enterobactérias, a partir de fezes.

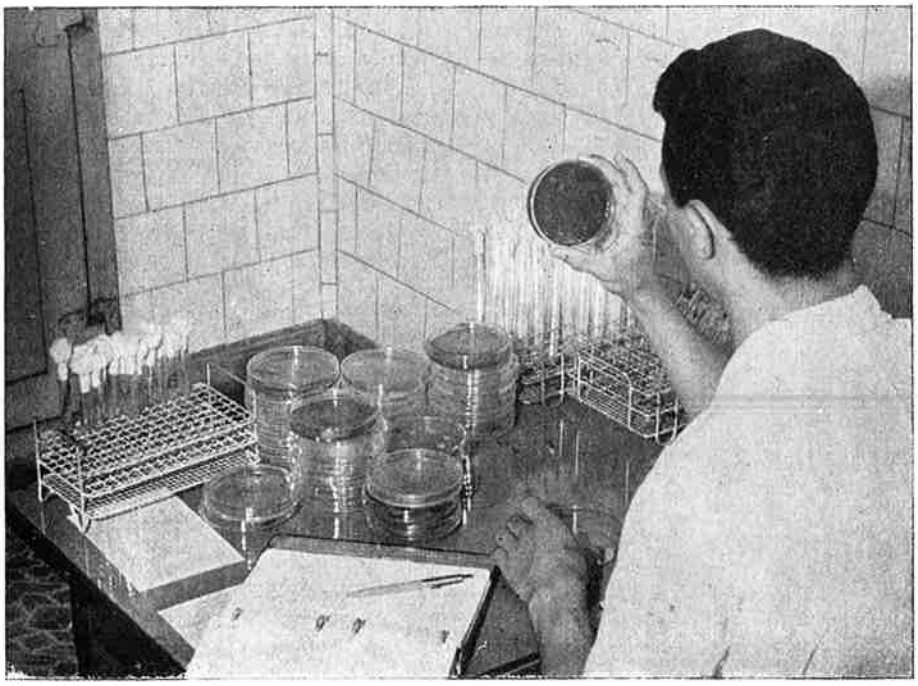

Figura 5. Laboratório de Enterobactérias.

Ao lado dêsse estudo, foram procedidas investigações sôbre a avaliação das vitalidade e viabilidade da vacina BCG, na base de sua atividade dehidrogenásica.

O Laboratório de Enterobactérias tem estudado, desde o início de suas atividades, os organismos prevalentes em enteroinfecções ocorrentes no Rio de Janeiro. A êsse respeito, diversos trabalhos têm sido feitos, mostrando as incidências relativas aos principais microrganismos do grupo. Igualmente, têm sido investigados, entre os diversos grupos de enterobacterias (*Shigella*,

O Laboratório de Cocos patogênicos ocupa-se, principalmente, dos estreptococos e de sua tipagem sorológica. Sôbre o assunto, já foram realizados diversos trabalhos, abrangendo a comparação das técnicas mais adequadas ao isolamento de germes em portadores e procedido um inquérito pilôto sôbre a ocorrência de estreptococos do grupo A em crianças de idade escolar. Os valores, relativamente altos, encontrados nas investigações levaram a que se procedesse um trabalho em escala ampla, em vias de execução.

ADMINISTRAÇÃO — As tarefas de administração do I.M. estão a cargo de uma Divisão, a que se subordinam também alguns serviços técnicos de caráter geral, como o Laboratório central de preparo de meios de cultura, Biotérios de criação etc.

FUNDOS — O I.M. é mantido, principalmente, com recursos fornecidos pela Universidade do Brasil. Além disso, o I.M. tem recebido auxílios de outras instituições, como o Conselho Nacional de Pesquisas, Serviço Nacional de Tuberculose, CAPES, Ministério da Saúde, IPASE (Hospital dos Servidores do Estado) e Serviço Especial de Saúde Pública, órgãos com que mantém convênios de cooperação técnica-científica.

De outras instituições, não oficiais, tem também recebido auxílios, cabendo, entre êsses, destacar o que lhe foi concedido, em 1956, pela Fundação Rockefeller, graças ao qual foi possível um completo reequipamento do Instituto.

QUADRO DE PESSOAL — Está assim constituído: *Diretor* — Prof. Paulo de Góes. *Divisão de Vírus* — Joaquim Travassos, Manoel Bruno Alípio Lobo, Gilda G. Bruno Lobo e Hermann Gonçalves Schatzmayr. *Divisão de Microbiologia Geral* — Amadeu Cury e Pio Cesar de Lobão Portellada. *Divisão de Imunologia* — Moysés A. Fuks, João Ciribelli Guimarães e Carlos Eduardo Serpa. *Divisão de Microbiologia Médica* — Henrique da Silva Castro, Luiz Rodolpho Travassos, Italo Suassuna, Ivone Rocco Suassuna, Ivo Ferreira e Suraia Hagge. *Divisão de Ensino* — Noêmia Perin de Góes, Vicente d'Anniballe, Paulo de Souza Garcia e Revailza dos Santos Lopes. *Divisão de Administração* — Helena Carone de Almeida Cardoso, Luiz Carlos Couto, Helena Mendonça Nogueira, Siena Andreotti, João Carlos Miranda, Mário Gonçalves de Araújo, Perina Dias Pinheiro, Ricardo Buarque Franco Neto e Anália Rocha.

ESTATUTOS DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA

Aprovados em Sessão Conjunta de:
Sociedade Brasileira de Microbiologia
"Society of American Bacteriologists", Ramo do Rio de Janeiro
Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência

10 de julho de 1957

CAPÍTULO I

Da Sociedade

Art. 1.º A SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA (SBM), fundada em 28 de setembro de 1956, é uma sociedade civil, sem fins lucrativos, constituída de um órgão central com sede e fôro na Cidade do Rio de Janeiro (Distrito Federal), e de Seções Regionais, a qual se regerá pelos presentes Estatutos, nos têrmos da legislação em vigor.

Parágrafo único. É expressamente vedada qualquer atividade social que direta ou indiretamente se refira a assuntos de natureza política ou religiosa.

Art. 2.º A SBM tem por objetivos:

a) agremiar os Microbiologistas brasileiros;

b) promover o desenvolvimento da Microbiologia e dos assuntos correlatos;

c) estimular a pesquisa científica e suas aplicações;

d) melhorar as qualificações profissionais dos Microbiologistas;

e) manter intercâmbio e fazer aproximação com sociedades e instituições que visem a objetivos semelhantes, no País e

no estrangeiro, articulando-se ou filiando-se às mesmas, conforme o caso.

Art. 3.º Para a realização de seus objetivos a SBM tem a seus cuidados:

a) efetuar reuniões periódicas, em conjunto com outras sociedades ou isoladamente, para apresentação e discussão de trabalhos de pesquisa;

b) promover cursos e conferências por cientistas nacionais ou estrangeiros, para comunicação de trabalhos originais, divulgação científica e treinamento especializado;

c) planejar, organizar, patrocinar e administrar projetos de pesquisa que se tornem indispensáveis ao progresso da Microbiologia;

d) colaborar com as entidades oficiais ou particulares sugerindo medidas que visem à melhoria do rendimento do trabalho e à formação e aperfeiçoamento de pessoal especializado;

e) editar uma Revista para publicar trabalhos científicos e divulgar assuntos diversos relacionados com a Microbiologia e a SBM;

f) organizar o cadastro dos Microbiologistas do País, com um resumo de suas principais atividades, enviando-o aos sócios, periòdicamente;

g) instituir prêmios destinados a estimular a pesquisa no setor da Microbiologia, principalmente entre os jovens Microbiologistas;

h) cooperar no aproveitamento de Microbiologistas pelas instituições oficiais e particulares.

CAPÍTULO II

Dos Sócios

Art. 4.º A SBM é constituída de sócios em número ilimitado, pertencentes às seguintes categorias: efetivos, correspondentes, honorários e cooperadores.

a) qualquer pessoa interessada nos objetivos da SBM pode ser proposta por dois associados quites e aceita como *sócio efetivo,* desde que obtenha parecer favorável da Comissão de Sindicância;

b) qualquer pessoa residente no exterior e ativamente interessada em Microbiologia pode ser aceita como *sócio correspondente,* nas mesmas condições do item *a;*

c) qualquer pesquisador nacional ou estrangeiro, que tenha prestado contribuições de excepcional relevância no setor da Microbiologia, pode ser aceito como *sócio honorário,* desde que não pertença aos quadros da SBM e tenha sido sua proposta apreciada por Assembléia Geral;

d) qualquer pessoa ou organização interessada em auxiliar financeiramente a SBM, para que esta possa alcançar seus objetivos, pode ser aceita como *sócio cooperador.*

Parágrafo único. Os sócios correspondentes e honorários não estão sujeitos ao pagamento de anuidades e os efetivos pagam as anuidades fixadas pelo Conselho.

Art. 5.º São direitos dos sócios:

a) propor medidas de caráter técnico ou administrativo que digam respeito ao desenvolvimento da SBM;

b) freqüentar as Assembléias Gerais e as Reuniões, inclusive as especializadas e tomar parte nas discussões;

c) votar e ser votado nas eleições, exceto os sócios correspondentes, honorários e cooperadores;

d) receber gratuitamente as publicações da SBM;

e) licenciar-se pelo prazo máximo de dois anos, mediante comunicação prévia.

Art. 6.º São deveres dos sócios:

a) trabalhar em prol da SBM e de seus objetivos;

b) participar das sessões e dos debates;

c) acatar as decisões dos órgãos dirigentes da SBM;

d) pagar as anuidades regularmente.

CAPÍTULO III

Da Administração

Art. 7.º A Administração da SBM é feita pelos seguintes órgãos:

a) Diretoria;

b) Conselho;

c) Assembléia Geral.

Art. 8.º A Diretoria é composta dos seguintes membros: Presidente, Vice-Presidente, Tesoureiro e Secretário, todos eleitos por períodos de dois anos, sendo permitida a reeleição, uma única vez, para o mesmo cargo.

Art. 9.º São atribuições da Diretoria:

a) administrar o patrimônio da SBM;

b) reunir-se, tôdas as vêzes que se fizer necessário, por convocação do Presidente ou da maioria de seus membros;

c) executar as deliberações do Conselho e da Assembléia Geral;

d) nomear Comissões temporárias ou permanentes que se tornem necessárias para o melhor funcionamento da SBM;

e) apresentar ao Conselho relatórios e prestações de contas;

f) convocar o Conselho e a Assembléia Geral;

g) organizar e apurar as eleições e dar posse aos eleitos;

h) promover pelo menos uma Reunião Anual do Conselho e da Assembléia Geral, fixando as datas e o temário para as mesmas;

i) deliberar sôbre a admissão e a eliminação de sócios, *ad referendum* do Conselho;

j) elaborar os programas culturais e planejar o que fôr necessário para a consecução dos objetivos da SBM, constantes dos artigos 2.º e 3.º dêstes Estatutos;

k) publicar a Revista da SBM.

Art. 10. Ao Presidente compete representar a SBM em juízo ou fora dêle, bem como presidir as Reuniões da Diretoria, do Conselho e da Assembléia Geral.

Art. 11. Ao Vice-Presidente compete substituir o Presidente em seus impedimentos.

Art. 12. Ao Tesoureiro incumbe administrar o patrimônio da SBM e tratar da contabilidade, organizando as prestações de contas anuais para serem apresentadas pela Diretoria ao Conselho.

Art. 13. Ao Secretário incumbe:

a) secretariar as Reuniões da Diretoria, do Conselho e da Assembléia Geral;

b) proceder ao expediente da SBM;

c) organizar o noticiário da SBM a ser publicado na Revista da SBM.

Art. 14. A Conselho é constituído da seguinte forma:

a) de um sócio efetivo residente nos limites geográficos de cada Seção Regional que tenha mais de 20 sócios efetivos e indicado pelos membros da Seção;

b) dos antigos presidentes da SBM;

c) dos membros da Diretoria em exercício, êstes sem direito a voto em questões que lhes digam respeito.

Parágrafo único. Os membros a que se refere a letra *a* têm um mandato de 4 anos, renovada a metade de dois em dois anos, sendo permitida a reeleição apenas por mais um período.

Art. 15. Ao Conselho incumbe:

a) regulamentar as deliberações da Assembléia Geral;

b) dar conhecimento aos sócios, dos nomes dos candidatos aos cargos eletivos;

c) aprovar a constituição, o Regimento Interno e a filiação de Seções Regionais, integrada cada uma destas por associados residentes em qualquer cidade ou região do País;

d) deliberar sôbre as publicações da SBM;

e) propor à Assembléia Geral os candidatos a sócios coperadores;

f) fixar as anuidades para os sócios efetivos;

g) deliberar sôbre os casos omissos nestes Estatutos.

Art. 16. A Assembléia Geral é constituída por todos os sócios efetivos quites e pelos sócios honorários; reunir-se-á quando convocada pelo Conselho ou por um têrço dos sócios efetivos quites.

Art. 17. Deve ser convocada uma Reunião Anual, em data fixada pelo Conselho, a realizar-se nas sedes das Seções Regionais, tanto quanto possível pelo sistema de rodízio, para os seguintes fins:

a) apresentação de trabalhos científicos;

b) deliberar sôbre matéria que não esteja atribuída a outros órgãos da SBM, nos presentes Estatutos;

c) apreciar o relatório e as contas da Diretoria, encaminhados pelo Conselho;

d) eleger o Conselho e a Diretoria, para o que não é necessária uma Reunião especial.

Art. 18. Os sócios que se fizerem representar por procuração, bem como os que mandarem voto escrito sôbre o assunto da convocação, serão considerados presentes à Assembléia Geral ou à Reunião Anual.

Parágrafo único. O número de procurações apresentadas por um sócio, não poderá exceder de 3.

Art. 19. As eleições para os diversos cargos da Administração serão feitas por meio de cédulas não assinadas, enviadas em envelope fechado contendo por fora o nome do associado, e que será aberto na hora da apuração.

Parágrafo único. O Conselho organizará a lista dos candidatos aos cargos eletivos, a qual, depois de encaminhada com a devida antecedência aos associados, deverá ser devolvida por êstes, com a indicação dos nomes escolhidos.

CAPÍTULO IV

Das Disposições Gerais

Art. 20. A orientação científica das publicações da SBM é efetuada por uma Comissão Técnica designada pelo Conselho.

Parágrafo único. O Presidente dessa Comissão será o Redator Responsável da Revista da SBM.

Art. 21. O patrimônio da SBM é constituído pelas contribuições dos sócios efetivos e cooperadores, pelas doações em dinheiro ou em material e por quaisquer outros bens móveis ou imóveis que a SBM venha a adquirir.

Art. 22. Os sócios não são responsáveis pelas dívidas da SBM.

Art. 23. A Diretoria é responsável pela administração dos bens da SBM.

Art. 24. Os presentes Estatutos só podem ser reformados mediante proposta assinada por um têrço dos membros efetivos e aprovada por dois têrços do total de sócios efetivos quites.

Art. 25. A Sociedade só pode ser dissolvida por deliberação de Assembléia Geral Extraordinária convocada especialmente para êsse fim, com a presença de dois têrços dos membros efetivos e maioria absoluta dos votantes.

Art. 26. Em caso de dissolução da SBM, a Assembléia que tomar tal deliberação destinará o patrimônio da Sociedade a uma ou várias instituições de pesquisas em Microbiologia do País.

Art. 27. As Reuniões da SBM são realizadas, enquanto não possuir sede própria, em locais cedidos por outras instituições, de preferência naquelas que se dedicam à Microbiologia, informados os sócios, pela Diretoria, com a devida antecedência.

Art. 28. As Seções Regionais regem-se pelos presentes Estatutos no que lhes fôr aplicável e por um Regimento Interno elaborado pelos seus membros.

Parágrafo único. As Seções Regionais devem realizar pelo menos duas reuniões anuais, para apresentação de trabalhos de pesquisa e comunicações diversas de seus associados.

INFORMAÇÕES SÔBRE PRIMATAS

A Redação da REVISTA recebeu da Organização Panamericana da Saúde um pedido de informações sôbre primatas, nos têrmos que transcrevemos adiante. Os leitores que quiserem colaborar com a Organização poderão dirigir-se diretamente à mesma (Caixa Postal 159, Rio de Janeiro, Brasil), ou à Redação da REVISTA.

"A Organização Panamericana da Saúde está colaborando com o Instituto do Laboratório de Recursos Animais, do Conselho Nacional de Pesquisas dos Estados Unidos, e com outras entidades interessadas, na realização de um levantamento

sôbre obtenção e utilização de animais para laboratório.

De particular interêsse, no momento, é o problema de obtenção de dados sôbre Primatas na América do Sul. Assim sendo, solicitamos a sua valiosa cooperação no sentido de informar-nos, se possível, o seguinte:

1) Conhece V. Sa. alguém que atualmente esteja realizando estudos sôbre macacos, no Brasil?

2) Onde se podem obter informações sôbre tipo, número, reprodução e mortalidade de macacos selvagens, ou outros Primatas selvagens, no Brasil?

3) Que espécies estão sendo utilizadas no País, ou estão sendo exportadas para fins experimentais?

4) Aproximadamente quantos macacos, Primatas, etc. são exportados pelo Brasil, anualmente?

5) Como obter nomes e endereços de agentes ou exportadores de macacos no Brasil (inclusive de fornecedores de animais para Jardins Zoológicos)?

Muito apreciaremos, também, quaisquer outras informações que V. Sa. nos possa fornecer sôbre o assunto.

Com os nossos sinceros agradecimentos pela atenção que dispensar à presente, apresentamos

Cordiais saudações, a.) *Dr. Donald F. Damude*, Assessor de Saúde Pública Veterinária".

NOTÍCIAS DIVERSAS

Realizar-se-á em Salvador, Bahia, de 13 a 19 de julho de 1959, a 2.ª Reunião Anual da SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA, correspondente à Assembléia Geral dos Associados e conjuntamente com a XII Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência.

Estão os associados convidados a comparecer e apresentar trabalhos de suas especialidades.

A 1.ª Reunião Anual foi efetuada em São Paulo, também conjuntamente com a Reunião Anual da S.B.P.C., em julho de 1958.

Realizar-se-á na Bahia, no período de 3 a 18 de julho do corrente ano, o I CURSO DE APERFEIÇOAMENTO EM BACTERIOLOGIA DA TUBERCULOSE, sob os auspícios do Instituto Brasileiro para Investigação da Tuberculose e do Instituto de Microbiologia da Universidade do Brasil, tendo como responsáveis os Profs. José Silveira e Paulo de Góes, em colaboração com Georges Canetti (França), Hubert Bloch (Estados Unidos), Arlindo de Assis (Rio), M. F. Magarão (Rio), Laerte de Andrade (Rio), Rui Barreto (Rio) e Ivo Ferreira (Rio).

O programa está assim organizado:

DIA 3 — *Sexta-feira*

Manhã — Aula inaugural — "Problemas da clínica e da epidemiologia da Tuberculose a exigirem esclarecimento experimental" — PROF. JOSÉ SILVEIRA.

"Problemas gerais da sistemática do gênero *Mycobacterium*" — PROF. PAULO DE GÓES.

Noite — "Novos rumos na bacteriologia da tuberculose" — PROF. HUBERT BLOCH.

DIA 4 — *Sábado*

Manhã — "Citologia e citoquímica das micobactérias" — DR. LAERTE DE ANDRADE.

Noite — "Mecanismos de patogenicidade na tuberculose" — PROF. HUBERT BLOCH.

DIA 6 — *Segunda-feira*

Manhã — "Metabolismo das micobactérias" — DR. RUI BARRETO.

Noite — "Novos rumos na epidemiologia da tuberculose" — PROF. HUBERT BLOCH.

DIA 7 — *Têrça-feira*

Manhã — "Problemas gerais no cultivo das micobactérias" — DR. IVO FERREIRA.
Noite — "O papel dos fatôres não específicos na tuberculose" — PROF. HUBERT BLOCH.

DIA 8 — *Quarta-feira*

Manhã — "Tuberculose Experimental" — DR. M. F. MAGARÃO.
Noite — "Imunização experimental contra a tuberculose" — PROF. HUBERT BLOCH.

DIA 9 — *Quinta-feira*

Manhã — "Caracteres dos mutantes resistentes do *Mycobacterium tuberculosis*" — DR. M.F. MAGARÃO.
Noite — "Imunidade antituberculose e seus mecanismos" — PROF. HUBERT BLOCH.

DIA 10 — *Sexta-feira*

Manhã — "Provas *in vitro* de virulência das micobacterias" — DR. IVO FERREIRA.
Noite — "Discussão do papel da alergia na tuberculose" — PROF. HUBERT BLOCH.

DIA 11 — *Sábado*

Manhã — "Dados recentes sôbre a natureza da imunidade antituberculosa" — PROF. GEORGES CANETTI.
Noite — "Fundamentos da Vacinação anti-tuberculosa com o BCG". — PROF. ARLINDO DE ASSIS.

DIA 12 — *Domingo*
Manhã — *"Simpósio"* — "Quimioprofilaxia e Vacinação Antituberculosa" — PROFESSÔRES ARLINDO DE ASSIS, GEORGES CANETTI, HUBERT BLOCH e J. SANTOS NEVES.

DIA 13 — *Segunda-feira*

Manhã — *LIVRE*
Noite — "Os bacilos tuberculosos atípicos" — PROF. GEORGES CANETTI.

DIA 14 — *Têrça-feira*

Manhã — "Desenvolvimento dos bacilos isoniazido-resistentes nas lesões tuberculosas" — PROF. GEORGES CANETTI.
Noite — "A estrutura das amostras de bacilos isoniazido-resistentes" — PROF. GEORGES CANETTI.

DIA 15 — *Quarta-feira*

Manhã — *LIVRE*
Noite — "Correlação entre a taxa de isoniazida livre do sôro sanguíneo e os bacilos isoniazido-resistentes encontrados no homem" — PROF. GEORGES CANETTI.

DIA 16 — *Quinta-feira*

Manhã — "O problema da virulência dos bacilos isoniazido-resistentes para o homem" — PROF. GEORGES CANETTI.
Noite — "Desenvolvimento de bacilos resistentes a diversos agentes antituberculosos no homem". — PROF. GEORGES CANETTI.

DIA 17 — *Sexta-feira*

Manhã — "Condições de acessibilidade dos bacilos tuberculosos à quimioterapia nas lesões tuberculosas do homem" — PROF. GEORGES CANETTI.

Noite — "Dados atuais sôbre a reinfecção tuberculosa" — PROF. GEORGES CANETTI.

DIA 18 — *Sábado*

Manhã — "O Problema da hipersensibilidade na tuberculose" — PROF. GEORGES CANETTI.

NOTA — Haverá aulas práticas e demonstrações sôbre questões fundamentais de técnica bacteriológica relativas às micobactérias. Inscrição e demais informações, com a Secretaria do IBIT. Caixa Postal 635. Bahia.

A organização do CONGRESSO INTERNACIONAL SÔBRE DOENÇA DE CHAGAS, comemorativo do cinqüentenário da descoberta, está em vias de se completar. O certame terá lugar no Rio de Janeiro, a partir do dia 5 de julho, devendo entretanto, no primeiro sábado de julho — dia 4, ser realizada uma sessão histórica e promovida a exposição comemorativa do evento.

A inauguração será no dia 5 de julho, às 21 horas, no Salão Nobre da Faculdade Nacional de Medicina (Avenida Pasteur, 458), sucedendo-se então uma semana de trabalho. As sessões para tal destinadas terão lugar no Instituto Oswaldo Cruz (Manguinhos). A adesão da Academia Nacional de Medicina e da Academia Brasileira de Ciências far-se-á pela promoção de sessões solene e extraordinária, respectivamente, falando na primeira o Prof. Irvine Page e na segunda o Prof. Theodor von Brandt, versando sôbre "Novos Rumos da Cardiologia" e "Metabolismo dos Tripanosomas".

A secretaria do Congresso avisa a todos os interessados no assunto que as manhãs estarão reservadas para a apresentação de trabalhos (temas livres). As inscrições para os mesmos serão aguardadas até o dia 30 de abril próximo. Os resumos que forem entregues até a data de 31 de maio serão publicados antes do Congresso.

Tôda a correspondência deve ser dirigida ao Prof. Carlos Chagas Filho — Avenida Pasteur, 458 — Rio de Janeiro, D.F.

É de se assinalar a importância que será dada no referido Congresso à Patogenia da Forma Cardíaca, à Profilaxia e às Relações entre Megaesôfago em Doença de Chagas. Serão também discutidos os recentes progressos no domínio da terapêutica.

Outras conferências programadas tratarão das bases da Quimioterapia das doenças produzidas por protozoários e da imunidade celular nas mesmas doenças, ou apresentarão relatórios circunstanciados sôbre a situação da endemia chagásica nos vários países latino-americanos. Deve ser apontada ainda, pelo interêsse do assunto, a conferência que será pronunciada pelo Dr. Norman Woody, de Corpus Christi, Texas, versando sôbre "A Doença de Chagas nos Estados Unidos".

Foi nomeado Diretor do Instituto Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro, D. F.) AMILCAR VIANA MARTINS, Membro da Comissão Técnica da REVISTA, Professor de Parasitologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais e antigo Diretor do Instituto Nacional de Endemias Rurais (Belo Horizonte, Minas Gerais). Outras nomeações para o Instituto foram: GENESIO PACHECO, Presidente da SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA, para Chefe da Divisão de Microbiologia e Imunologia; A. E. ARÊA LEÃO, para Chefe da Seção de Micologia; GOBERT ARAUJO COSTA, para Chefe da Seção de Bacteriologia; LAERTE MANHÃES DE ANDRADE, Conselheiro da Seção Fluminense da SBM, para Secretário.

LUIZ SIQUEIRA CARNEIRO, Conselheiro da Seção de Pernambuco da SBM, foi nomeado Secretário de Saúde do Govêrno do Estado de Pernambuco.

NEWTON NEVES DA SILVA, Conselheiro da Seção do Rio Grande do Sul da SBM, é o novo Diretor do Instituto de Pesquisas Biológicas da Secretaria de Saúde do Estado do Rio Grande do Sul.

Receberam bôlsas de estudo do "Institute of Inter-American Affairs" ITALO SUASSUNA, Secretário da SBM, e sua espôsa, IVONE ROCCO SUASSUNA, ambos pesquisadores do Instituto de Microbiologia, a fim de realizarem estudos sôbre Enterobactérias, no "Communicable Disease Center", onde já se encontram.

Foi nomeado livre-docente de Microbiologia da Faculdade Nacional de Farmácia da Universidade do Brasil MOYSÉS A. FUKS, pesquisador do Instituto de Microbiologia, que atualmente se encontra no Departamento de Bacteriologia da Universidade de Minnesota, aproveitando uma bôlsa de estudo que lhe foi concedida pela Fundação Rockefeller.

ATIVIDADES DAS SEÇÕES REGIONAIS DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA

Seção do Pará da S.B.M.

Presidente: Laurênio Teixeira da Costa, Instituto Evandro Chagas, Belém, Pará.
Secretário: José Bráulio dos Santos.
Tesoureiro: Orlando Rodrigues da Costa.
Comissão de Sindicância: Rui Teles de Borborema, Júlio Vaz Cerquinho, Carlos Amaral Costa, Luizileno Amoedo Roma Brasil, Helio Couto de Oliveira e Mário da Silva Machado.
Conselheiro junto à S.B.M.: Paulo Cordeiro de Azevedo.

Seção do Ceará da S.B.M.

Presidente: José Borges de Sales, Faculdade de Farmácia e Odontologia, Fortaleza, Ceará.
Secretário-Tesoureiro: Elcias Camurça.

Seção de Pernambuco da S.B.M.

Presidente: Mário Ramos e Silva, Faculdade de Medicina, Recife, Pernambuco
Vice-Presidente: A. Chaves Batista.
Secretário: Ivo Rabelo.
Conselheiro junto à S.B.M.: Luiz Siqueira Carneiro.

Seção da Bahia da S.B.M.

Presidente: Eduardo Lins Ferreira de Araujo, Faculdade de Medicina, Salvador, Bahia.
Vice-Presidente: Manoel Ferreira.
1.º Secretário: Carlos Branha Chaves.
2.º Secretário: Mafalda Giudice.
Tesoureiro: Adelina Luz.
Conselheiro junto à S.B.M.: Alexandre Leal Costa.

Reunião de 2 de outubro de 1958.

1. Citologia bacteriana sôbre coloração de esporos. Arudy Penna Costa.

Reunião de 6 de novembro de 1958.

1. Um provável caso de uretrite alérgica. Arudy Penna Costa.
2. Sôbre uma amostra de um bacilo tuberculoso atípico. Carlos Brenha Chaves.

Seção Fluminense da S.B.M.

Presidente: J. Madureira Pará, Instituto Vital Brazil, Niterói, Estado do Rio.
Vice-Presidente: Raymundo G. Cunha.
Secretário-Tesoureiro: Isaac Moussatché.
Comissão de Sindicância: Luiz Raimundo Tavares de Macedo e Vicente Leite Xavier.
Conselheiro junto à S.B.M.: Laerte Manhães de Andrade.

Reunião de 21 de novembro de 1958, na Escola Fluminense de Medicina Veterinária.

1. Novas contribuições ao problema da vacinação anti-aftosa. Raymundo G. Cunha.

Seção do Rio de Janeiro da S.B.M. e Ramo do Rio de Janeiro da "Society of American Bacteriologists"

Diretoria para 1958:
Presidente: Amadeu Cury, Instituto de Microbiologia, Rio de Janeiro, D.F.
Vice-Presidente: Gobert Araujo Costa.
Secretário-Tesoureiro: Vinicius Moreira Dias.

Conselheiro junto à S.B.M. e à "S. A. B.": Joaquim Travassos.

Diretoria para 1959:

Presidente: Raymundo Moniz de Aragão, Escola Nacional de Química, Rio de Janeiro, D.F.

Vice-Presidente: A. Oliveira Lima.

Secretário-Tesoureiro: Pio Cezar de Lobão Portellada.

Conselheiro junto à S.B.M. e à "S. A. B.": Joaquim Travassos.

Reunião de 10 *de julho de* 1957, no Museu Nacional, Rio de Janeiro, D.F.

1. Amostras de vírus Coxsackie do grupo B ocorrentes no Rio de Janeiro. Paulo de Góes, Julia V. Vasconcelos e Joaquim Travassos.

2. Bactério-impediência de matérias corantes sôbre *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Genesio Pacheco e Maria de Lourdes Santos.

3. Tipos de salmonelas e shigelas ocorrentes no Rio de Janeiro. Gobert A. Costa, Italo Suassuna e Ivone R. Suassuna.

4. Comparação de micobactérias patogênicas e não patogênicas em face de algumas provas *in vitro*. Laerte M. Andrade e Ivo Ferreira.

5. Diferenciação entre *Listeria monocytogenes* e *Erysipelothrix rhusiopathiae* com cloreto de trifeniltetrazólio. Vinicius M. Dias e Niber da Paz M. Silva.

6. Ocorrência de *Streptococcus* do grupo A em crianças normais no Rio de Janeiro. C. Solé Vernin e Henrique S. Castro.

Reunião de 12 *de julho de* 1957, no Museu Nacional, Rio de Janeiro, D.F.

1. Reprodução de bacteriófagos em protoplastos. H. Mahler.

2. Preservação de peixe por clorotetraciclina. Estudo da possibilidade de preservação por fórmula contendo aureomicina (Acronize B.I.). M.C.S. Veloso e J. Rosemberg.

3. Identificação de ácidos orgânicos da fermentação por cromatografia em papel. Anita D. Panek.

4. Fermentação de xaropes por leveduras. R.C.R. Barreto.

Reunião de 4 *de novembro de* 1957, na Associação Brasileira de Imprensa, Rio de Janeiro, D.F.

1. Influência da luz monocromática sôbre a virulência bacteriana. Niber da Paz M. Silva, Arlete Ubatuba e Genésio Pacheco.

2. Influência do silicato sôbre o crescimento do *Mycobacterium tuberculosis*. P. Fontana Jr. e Laerte M. Andrade.

3. Diferenciação entre *Listeria monocytogenes* e *Erysipelothrix rhusiopathiae* por provas de bactério-impediência (bacteriostase). Vinicius M. Dias e Leoncio A. Corral.

Reunião de 19 *de abril de* 1958, no Ministério da Educação e Cultura, Rio de Janeiro, D.F.

1. Observações sôbre a gripe asiática no Rio de Janeiro

I — Isolamento e identificação do vírus. Joaquim Travassos, M. Bruno Lobo, Gilda A. Gomes e Júlia V. Vasconcelos.

II — Sensibilidade dos vírus aos inibidores específicos. M. Bruno Lobo, Gilda A. Gomes, Júlia V. Vasconcelos e J. Travassos.

III — Anticorpos nos doentes clìnicamente diagnosticados. Gilda A. Gomes, M. Bruno Lobo, J. Travassos e Júlia V. Vasconcelos.

IV — Formas subclínicas ou frustras. Júlia V. Vasconcelos, J. Travassos, Gilda A. Gomes e M. Bruno Lobo.

2. Listeriose vaginal. Genésio Pacheco, Sidney I. Reis e Vinicius M. Dias.

Reunião de 21 *de junho de* 1958, no Laboratório Central de Contrôle de Drogas e Medicamentos, Rio de Janeiro, D.F.

1. Comparação de meios seletivos, indicadores e de enriquecimento usados no isolamento de enterobactérias patogênicas. Paulo de Góes, Gobert A. Costa, Achiles Scorzelli Jr., Ivone R. Suassuna e Italo Suassuna.

2. Diferenciação entre *Listeria monocytogenes* e *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Genesio Pacheco e Vinicius M. Dias.

3. Brucelose caprina no Nordeste. M. Thiago de Mello e Genesio Pacheco.

Reunião de 30 *de agôsto de* 1958, no Instituto Vital Brazil, Niterói, Estado do Rio.

1. Estudos sôbre a nutrição de *Saccharomycopsis guttulata*. Amadeu Cury e S.H. Hutner.

2. Resistência de salmonelas a macrófagos em cultura de tecidos como índice de virulência. Ivo Ferreira e G. Furness.

3. Atividades do Instituto Vital Brazil. J. Madureira Pará.

4. Observações sôbre instituições científicas de Fortaleza, Recife, São Paulo e Pôrto Alegre. Genesio Pacheco.

Reunião de 29 *de outubro de* 1958, na Escola Nacional de Química da Universidade do Brasil, Rio de Janeiro, D.F.

1. Modificações morfológicas e fisiológicas em alguns fungos cultivados em diferentes fontes nitrogenadas. J. A. Rosemberg.

2. Leveduras isoladas de extratos tanantes de Acacia negra (*Acacia decurrens* Wild, *var. molissima*). Hebe Martelli.

3. Notas preliminares sôbre as leveduras isoladas das uvas e dos mostos nas regiões vitícolas do Estado de São Paulo. O. Zardetto de Toletto, C. Gonçalves Teixeira e O. Verona.

4. A espermosfera no quadro das interações entre plantas e microrganismos. O. Verona.

5. Fermentação do cacau. V. Isolamento e identificação de leveduras presentes nos frutos maduros. Ruth Leibsholn e Hebe Martelli.

6. Aminoácidos presentes em células de *Agrobacterium tumefaciens* (Smith et Town) Cohn e de *Pseudomonas savatanci*. Anita D. Panek e O. Verona.

Reunião de 29 *de novembro de* 1958, na Faculdade Nacional de Filosofia, Rio de Janeiro, D.F.

1. Observações sôbre a gripe asiática no Rio de Janeiro.

V — Anticorpos no período pré-epidêmico. Joaquim Travassos e M. Bruno Lobo.

VI — Resposta sorológica a vacinas. M. Bruno Lobo e J. Travassos.

Seção de São Paulo da S.B.M.

Presidente: Adolfo Martins Penha, Instituto Biológico, São Paulo.

Secretário-Tesoureiro: Jandyra Planet do Amaral.

Comissão de Sindicância: Mário D'Apice e José de Toledo Mello.

Reunião de 11 *de julho de* 1958, na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, S. Paulo.

1. Cripto-antígenos e cripto-reações em fixação de complemento em tuberculose, lepra e calazar. J. Oliveira de Almeida.

2. Sôbre o mecanismo de contaminação de *Rhizopus nigricans*. J. Maniero.

3. Aplicação do método de redução de hemoglobina à determinação rápida de sensibilidade de bactérias a antibióticos, em serviços de rotina hospitalar. Rubens R. Vieira.

4. Distinção entre os gêneros *Listeria* e *Erysipelothrix*. Genesio Pacheco e Vinicius Moreira Dias.

5. Observações sôbre o uso de cabelo para o cultivo de fungos. Alba Sanches.

6. Incidência de brucelose caprina no Nordeste. M. Thiago de Mello e Genesio Pacheco.

Reunião de 5 *de setembro de* 1958, no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo.

1. Surto epidêmico de influenza "B" durante a pandemia de gripe asiática em São Paulo. Roberto A. Moura e Oscar S. Lopes.

2. Inquérito sôbre a relação entre a brucelose em porcos e em tratadores de suínos. Waldemar F. Almeida e Ayamá D. Caldas.

3. Tratamento da tuberculose bovina por meio da isoniazida. Adolfo M. Penha e L.B.S. Amaral.

Reunião de 12 *de novembro de* 1958, na Associação Paulista de Medicina, São Paulo.

1. Impressões sôbre o 6.º Congresso de Medicina Tropical. Carlos da Silva Lacaz.

Sociedade de Microbiologia de Ribeirão Prêto (Seção da S.B.M.).

Presidente: José Oliveira de Almeida, Faculdade de Medicina, Ribeirão Prêto, S. Paulo.

Secretário-Tesoureiro: Rubens Rocha Vieira.

Reunião de 18 *de agôsto de* 1958, na Faculdade de Medicina de Ribeirão Prêto.

1. Nova técnica de indução de fases em *Salmonellae*. O. Baracchini.
2. Técnica de preparo de discos para teste de antibióticos. Rubens R. Vieira.
3. Verificações experimentais sôbre imunidade humoral da doença de Chagas. Júlio Costa e Ariovaldo Costa.

Seção de Minas Gerais da S.B.M.

Presidente: Abdon Hermeto de Pádua Costa, Instituto Ezequiel Dias, Belo Horizonte, Minas Gerais.

Secretário: Osmane Hipólito.

Reunião de 3 *de março de* 1959.

1. Otite média dos suínos. — Osmane Hipólito.
2. Um caso de orquite brucélica em suínos. Osmane Hipólito.

Seção do Paraná da S.B.M.

Presidente: Fridolin Schlögel, Instituto de Biologia e Pesquisas Tecnológicas, Curitiba, Paraná.

Vice-Presidente: Emílio Sounis.

Secretário: José Maria Munhoz da Rocha.

Tesoureiro: Alceu Schwab.

Conselheiro junto à S.B.M.: Metry Bacilla.

Seção do Rio Grande do Sul da S.B.M.

Presidente: Jandyr Maia Faillace, Instituto de Pesquisas Biológicas, Pôrto Alegre, Rio Grande do Sul.

Vice-Presidente: Silvio Torres.

Secretário: Geraldo Kroeff de Farias.

Conselheiro junto à S.B.M.: Newton Neves da Silva.

A REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA solicita às Diretorias das Seções Regionais que remetam à Secretaria da S.B.M. noticiário sôbre as atividades das Seções: reuniões efetuadas, trabalhos apresentados, congressos, notícias sôbre associados e assuntos de interêsse para a SOCIEDADE e seus membros.

NOVA ERA NA TERAPÊUTICA PELOS ANTI-HISTAMÍNICOS

P O L A R A M I N E

REPETABS

Comprimidos

O anti-histamínico de escolha em *tôdas* manifestações alérgicas

* Afecções alérgicas do aparelho respiratório

rinite alérgica — certos casos de asma — resfriado.

* Reações medicamentosas causadas por:

sulfonamidas — antibióticos de amplo espectro — penicilina — soros.

* Afecções alérgicas cutâneas

dermatites de contato e atópica — eczema alérgico — prurido anal e vulvar — prurido de origem não específica — urticária — angiodema — picadas de inseto.

* Alergias alimentares
* Enxaqueca

EMBALAGENS ORIGINAIS

POLARAMINE REPETABS

Frasco com 12 Repetabs de 6 mg.

POLARAMINE comprimidos

Frasco com 20 comprimidos de 2 mg.

INDÚSTRIA QUÍMICA E FARMACÊUTICA SCHERING S.A.

Rua Morais e Silva, 43 — Rio de Janeiro

S. Paulo - P. Alegre - B. Horizonte - Juiz de Fora - Salvador - Recife - Fortaleza

MEDICAMENTOS

COM A

Cruz Bayer

O SIMBOLO
DE
CONFIANÇA

(continuação)

Aos autores de artigos serão fornecidos gratuitamente 25 separados. Para quantidades maiores serão necessários entendimentos prévios, sendo cobrados os separados excedentes de 25.

Os membros da Sociedade Brasileira de Microbiologia receberão gratuitamente a REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA.

Para os não sócios os preços são os seguintes:
Assinatura anual: para o Brasil — Cr$ 200,00; para o estrangeiro — US$ 4.00. Número avulso: para o Brasil — Cr$ 50,00; para o estrangeiro — US$ 1.00.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os artigos devem ser enviados à Redação em duplicata (original e cópia), datilografados em papel liso tipo almaço, com espaço duplo e margens grandes. Poderão ser em qualquer língua, seguidos de resumo em inglês ou português, quando forem escritos em português ou outra qualquer língua, respectivamente.

Cada artigo será revisto por um ou mais membros da Comissão Técnica, sendo mantido o anonimato dêstes a fim de que seus comentários possam ser francos e objetivos. Essa revisão tem por fim auxiliar os Autores a evitar enganos em suas contribuições e permitir a publicação de trabalhos que se ajustem às finalidades da REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA.

Solicita-se que os Autores limitem a extensão de seus artigos a 20 páginas impressas, no máximo, bem como os entreguem prontos para impressão, a fim de diminuir os custos das correções de provas. Nos casos em que a extensão ou as correções tipográficas forem muito grandes, será cobrada taxa adicional.

A REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA se reserva o direito de fazer pequenas modificações de natureza tipográfica nos artigos, de modo que êstes tenham apresentação uniforme. Quando a Comissão Técnica sugerir alterações nos artigos, serão êstes devolvidos aos Autores, com o parecer ou as sugestões da Comissão Técnica.

Os gráficos e os desenhos deverão ser feitos a tinta nanquim e em papel apropriado. Todo o material ilustrativo deverá limitar-se ao estritamente necessário a ser absolutamente nítido, para permitir sua reprodução fotográfica, sem retoque.

Para outros detalhes, relativos à organização, bibliografia, abreviações, símbolos, nomenclatura microbiana etc., devem ser seguidas as "Instruções aos Autores", publicadas pelo "*Journal of Bacteriology*".

A tabela de preços para anúncios deverá ser solicitada à Redação.

Tôda correspondência deve ser dirigida à Redação da
REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA
Caixa Postal Botafogo, 6 — Rio de Janeiro, D.F.

Publicada pela SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA

Composto e impresso
na Oficina Gráfica da
Universidade do Brasil