VOLUME 4 1963 N.° 1/2

REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA

Órgão Oficial da Sociedade Brasileira de Microbiologia

Publicada pela
SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA
Caixa Postal 6 - ZC-02 — Botafogo
RIO DE JANEIRO — BRASIL

REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA

Editor
GENESIO PACHECO
Instituto Oswaldo Cruz

COMISSÃO TÉCNICA

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

AMILCAR VIANA MARTINS
Instituto Oswaldo Cruz
Rio de Janeiro, GB

JOAQUIM TRAVASSOS
Instituto Oswaldo Cruz
Rio de Janeiro, GB

METRY BACILLA
Instituto de Biologia e Pesquisas Tecnológicas
Curitiba, Paraná

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

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

PAULO CORDEIRO DE AZEVEDO
Faculdade de Medicina
Belém, Pará

PAULO DE GOES
Instituto de Microbiologia da Universidade do Brasil
Rio de Janeiro, GB

RAYMUNDO MONIZ DE ARAGÃO
Escola Nacional de Química
Universidade do Brasil
Rio de Janeiro, GB

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

VOLUME 4 1963 NÚMEROS 1/2

REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA

ÍNDICE

Págs.

Superfícies isohemolíticas de Tipo R e H em reações de fixação do complemento no sistema brucelose — JOSÉ OLIVEIRA DE ALMEIDA 3 - 12

Estudo bacteriológico no dinheiro-papel — MARIA CHARÃO DA SILVEIRA ..... 13 - 16

Cultura da Listeria monocitógenes — GENÉSIO PACHECO & MARGARIDA BARROSO ..... 17 - 18

Crônica ..... 19 - 22

Rev. Bras. Microb., 1963, 4 (1/2): 3-12

SUPERFÍCIES ISOHEMOLÍTICAS DE TIPO «R» E «H» EM REAÇÕES DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO NO SISTEMA BRUCELOSE

PROF. DR. JOSÉ OLIVEIRA DE ALMEIDA *

(Recebido para publicação em 20 de agôsto de 1963)

A reação de fixação de complemento para brucelose tem apresentado resultados, comparáveis aos obtidos por reação de aglutinação, mostrando apenas certas diferenças quanto ao tempo de sua positivação e sua duração na convalescência. Apresenta no entanto vantagens intrínsecas como melhor padronização dos elementos, mais fácil leitura, menor consumo de reagentes e feitura mais rápida, sendo portanto, a nosso ver, o método de escolha para inquéritos sorológicos.

A reação de fixação de complemento tem sido utilisada também para o diagnóstico do tipo de brucela, tendo em vista maior reatividade sérica com o antígeno de maior riqueza na bactéria, uma vez que tôdas as três espécies de brucelas possuem os mesmos antígenos A e M, o primeiro mais abundante na espécie abortus e o segundo na **B. melitensis** (LEON e BERNAL, 1948). Pela simples observação da reação com soros diluídos de pacientes com brucelose PIROSKY **et al.** (1941) puderam evidenciar soros em que predominavam anticorpos para um dos antígenos A ou M.

Durante um inquérito sorológico para brucelose, tivemos ocasião de encontrar soros que reagiam em provas de fixação de complemento, de maneira não usual, tendo nossa atenção sido chamada para o efeito zonal, de grande intensidade, quando se empregava um antígeno glúcido-lipídico. O fenômeno não era evidenciado quando antígenos de suspensões de brucelose extraídas era empregado.

Na presente investigação estudamos as características do complexo antígeno-anticorpo formado com o antígeno tipo Boivin de **B. abortus**, e sôro de um paciente de sintomatologia sugestiva de brucelose.

O método de isofixação (ALMEIDA, 1956) foi empregado para o estudo das relações quantitativas entre sôro, antígeno e complemento. A superfície hemolítica determinada nesse sistema justifica a descrição de um nôvo tipo de curva de isofixação, o tipo IV, com características que imprimem certo comportamento à reação de fixação de complemento quando praticada por métodos quantitativos.

O fenômeno descrito por nós no sistema brucelose, tem grande analogia com outro observado em reações de precipitação, parecendo ser antes manifestação de certas propriedades do complexo antígeno-anticorpo, do que a tradução de características próprias do anticorpo (BOYD, 1941).

MATERIAL E MÉTODOS

1) A presente investigação foi feita com sôro humano de um caso suspeito de brucelose, por apresentar título alto aglutinante com suspensão de **B. abortus.**

2) **ANTÍGENOS**

a) A suspensão de **B. abortus** B-99-2252 * foi padronisada em nefelômetro EEL, aferido

* Professor-catedrático do Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Prêto da Universidade de São Paulo.

* Preparada no Instituto Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro, pelo Dr. Thiago de Mello.

em 6, com água destilada para dar leitura 100 na escala nefelométrica.

A. **ANTÍGENO SOLÚVEL, GLÚCIDO-LIPÍDICO**

b) 100 ml da suspensão original de brucelas foram centrifugadas em SERVALL a 20.000 G durante 30 minutos, em copos de 50 ml. O sedimento foi tratado com ácido tricloracético n/4 e agitado continuamente a frio (4°C), em moinho de bolas de porcelana. Centrifugado de nôvo a 20.000 G por 1 hora e o sobrenadante foi colhido e mantido em geladeira.

c) O sedimento, consistindo de brucelas extraídas, foi de nôvo submetido ao mesmo tratamento, tendo sido o tempo de extração prolongado por 18 horas a 4°C. Centrifugado a frio, o sedimento foi lavado 4 vêzes com água destilada. O extrato ácido foi juntado ao primeiro. O sedimento de brucelas ré-extraídas e lavadas foi conservado a 4°C.

d) O extrato ácido foi dializado durante 10 horas em água corrente e depois em água destilada, com trocas repetidas de água durante 72 horas, a 4°C.

e) O dializado, já livre de ácido, com pH 6,7 foi distribuído em frascos de liofilização e seco por método crioquímico. O material extraído de 100 ml da susepnsão original de brucela pesou 0,119 mg.

f) O antígeno é preparado dissolvendo 1 mg de pó em 1 ml de solução salina isotônica.

B. **ANTÍGENO INSOLÚVEL DE BRUCELAS EXTRAÍDAS**

a) O sedimento de brucelas extraídas pelo ácido tricloracético é lavado em água destilada, e ressuspenso no volume original de 100 ml com solução NaCl a 0,85%.

b) Na ocasião de ser usada, a suspensão é agitada para homogeinizá-la.

3) **Complemento, hemácias e hemolisina** foram preparados e padronizados de acôrdo com a técnica descrita anteriormente (ALMEIDA, 1950).

MÉTODOS

Foi empregado, no estudo das inter-relações entre antígeno e anticorpo, o método de «isofixação» (ALMEIDA, 1956) com 3 e 6 unidades de complemento. Sôro e antígeno diluídos convenientemente em solução salina, foram postos a reagir com o complemento, durante 90 minutos a 37°C. As quantidades de antígeno reagindo com tôdas as soluções de sôro, em presença de 3 e também de 6 unidades de complemento, permitiam determinar quais as quantidades de sôro (anticorpo) que produziam complexos que deixavam ainda complemento suficiente para produzir 50 % de hemólise, quando 0,2 ml de hemácias padronisadas e sensibilisadas (ALMEIDA, 1950) eram juntados aos tubos de reação e incubados por 30 minutos a 37°C. Os tubos mostrando hemólise parcial eram lidos depois de terem recebido 0,5 ml de solução salina gelada e centrifugados. A leitura do sobrenadante foi realizada em comprimento de onda de 545 e em foto-colorímetro EEL adaptado para receber tubos 12 x 75 mm e volumes de 1 ml, tendo um limbo graduado em percentagens de hemólise com erro menor que 5%.

O levantamento das curvas isohemolíticas foi feito por projeção em papel milimetrado regular, das quantidades de antígeno (em abcissas) e de sôro (em ordenadas) presentes nos tubos que mostraram hemólise igual a 50%. Pelos pontos assim determinados foi traçada uma curva «isohemolítica ou de isofixação» para cada quantidade de complemento, inicialmente presente na reação. Para o levantamento do gráfico admitimos que a hemólise de 50% traduzia uma unidade de complemento deixada livre.

No caso de não ser observada hemólise de 50%, as quantidades de sôro e de antígeno eram calculadas por interpolação, a partir das hemólises parciais obtidas com complexos de composição conhecida.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando quantidades variáveis de antígeno em mistura com quantidades variáveis de sôro reagem formando precipitados, a reação poderá ser avaliada cinèticamente, pela medida do tempo necessário para a formação de uma floculação de intensidade constante. O tempo necessário para a formação dos precipitados pode ser o mesmo, em uma

variedade de combinações entre antígeno e sôro. Se então projetarmos em um gráfico, aquelas quantidades de antígeno e as de sôro capazes de, por combinação, formar um precipitado em um tempo constante, pontos podem ser determinados sôbre uma curva «isocrônica». Por êsse método BOYD (1941), estudou as reações entre hemocianina de **Limulus** e anticorpos de coelho e de cavalo. Êsse autor anotou os tempos necessários para um determinado grau de precipitação, traçando linhas isocrônicas pelos tubos em que se observou a formação do precipitado. Em seu trabalho BOYD classificou essas linhas isocrônicas em dois tipos: R e H. A curva do tipo R apresentava uma nítida inflexão indicadora da dose de antígeno de máxima reatividade, isto é, aquela capaz de evidenciar, por precipitação, a menor quantidade de anticorpo. O sôro do tipo R possuía um único ótimo de proporções em relação ao antígeno e como era proveniente de coelho inoculado com hemocianina, BOYD relacionou o seu comportamento com a espécie de animal e daí o símbolo R (de **rabbit**, coelho).

Quando o anticorpo provinha de inoculação de cavalo, as suas curvas isocrônicas mostravam duas inflexões distintas, correspondentes às duas doses de máxima reatividade: a quantidade de sôro capaz de reagir com a menor quantidade de antígeno e a quantidade de antígeno capaz de reagir com a menor quantidade de anticorpo. A curva de dois ótimos foi denominada então por BOYD de curva do tipo H (de **horse**, cavalo).

O método de isofixação (ALMEIDA, 1956) de complemento, baseia-se no traçado de uma curva isocrônica, em condições muito semelhantes àquelas estipuladas por BOYD para as reações de precipitação. Em isofixação o ponto final da reação é um determinado grau de hemólise, que é o de 50% por suas características intrínsecas de precisão. Êsse grau de hemólise traduz a presença de certa quantidade de complemento livre na mistura antígeno-anticorpo-complemento e que para todos os efeitos é considerada igual a uma unidade hemolítica.

A semelhança do método de BOYD com o de ALMEIDA é bem maior se considerarmos que as quantidades de complemento fixadas dependem da formação de complexos antígeno-anticorpos, que floculando, formam uma grande superfície sôbre a qual se processa a fixação de complemento.

Assim, na realidade, o complemento fixado indica a presença do complexo antígeno-anticorpo e, se a quantidade de complemento fixada é a mesma, também o é a superfície de fixação.

Enquanto BOYD avaliava os seus complexos imunes pelo tempo necessário a um determinado grau de precipitação, ALMEIDA media o complemento livre, escolhendo aquelas misturas de sôro e antígeno dotadas da mesma capacidade de fixar complemento. Desta maneira cada linha de isofixação representaria o comportamento dos complexos imunes, em face de um indicador de fixação, o complemento, em um tempo de incubação preliminar e de hemólise constante. Essa linha é portanto também uma linha «isocrônica» da reação entre antígeno, anticorpo e complemento.

Curvas de isofixação determinadas com várias quantidades de complemento definem uma superfície de um sólido (Gráfico Nº 1) cujos eixos correspondem respectivamente a antígeno, anticorpo e complemento, de um modo muito semelhante ao sólido descrito por BOYD com as ordenadas: antígeno, anticorpo e tempo de precipitação. A substituição do tempo por complemento é perfeitamente compreensível em vista das relações intrínsecas entre estas duas variáveis dependentes depois que VON KROGH (1916) e ALMEIDA (1947) demonstraram a equivalên-

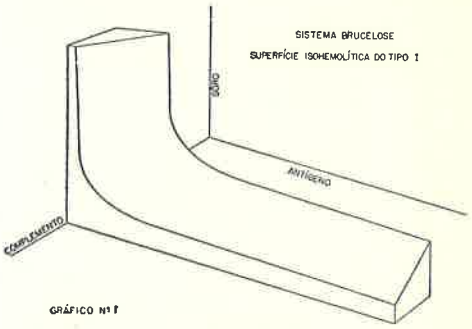


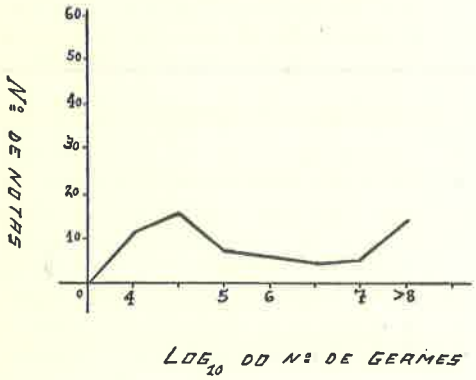
GRÁFICO Nº 1 — As curvas de isofixação de complemento definem uma superfície isohemolítica de um sólido, cujos eixos são: antígeno, anticorpo e complemento

cia entre tempo de hemólise e concentração de complemento.

No estudo das relações quantitativas entre antígeno de **Brucella abortus**, sôro humano e complemento, pudemos aplicar as noções anteriormente esquematizadas, quando deparamos linhas de isofixação apresentando um ou dois ótimos de reatividade, de uma semelhança chocante com os achados de BOYD por método de precipitação.

Neste nosso estudo apresentamos argumentos experimentais que nos levam a conclusões diversas das daquele autor no que concerne à origem das curvas do tipo R e H.

Os antígenos empregados foram dois: o solúvel tipo Boivin e a suspensão de brucelas extraídas pelo ácido tricloracético. O PROTOCOLO Nº 1 mostra os resultados obtidos com 3 e 6 unidades de complemento com antígeno de brucelas extraídas. As curvas isohemolíticas traçadas (Gráfico nº 2) têm marcada tendência para o tipo II com afastamento progressivo da abcissa correspondente às concentrações de antígeno.



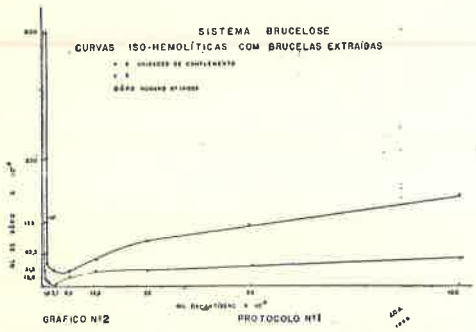
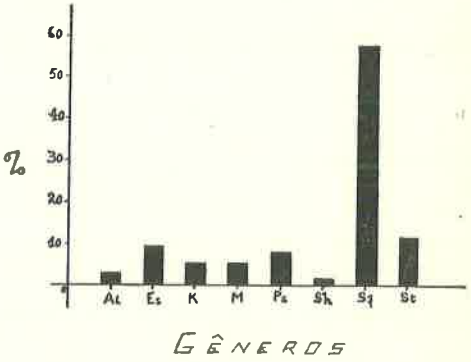


GRÁFICO Nº 2 — As curvas isohemolíticas com 3 e 6 unidades de complemento pertencem nìtidamente ao tipo II

O PROTOCOLO Nº 2 apresenta os resultados com o antígeno solúvel do tipo Boivin. As curvas isohemolíticas traçadas pertencem nìtidamente ao tipo I, com uma característica particular do ramo vertical se afastar do eixo da ordenada correspondente, quando maiores quantidades de sôro são empregadas (Gráfico nº 3).



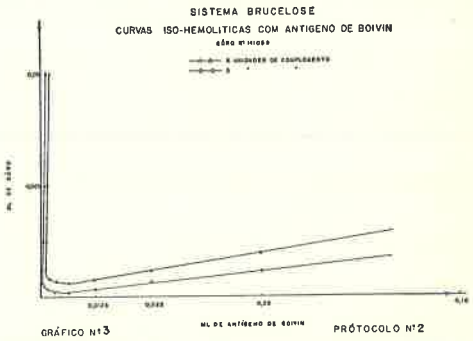


GRÁFICO Nº 3 — As curvas isohemolíticas com antígeno de Boivin, embora podendo-se classificar como tipo II, apresentam certa inibição em excesso de sôro

Fazendo-se as projeções dessas curvas em um sistema logarítmico de coordenadas, podemos ver nìtidamente as inflexões correspondentes aos «ótimos» observados, definindo o tipo R e H como descritos por BOYD (1941) (Gráficos ns. 4 e 5).

A interpretação das curvas isohemolíticas baseia-se no exame dos efeitos das concentrações dos reagentes sôbre a reação de fixação de complemento.

Os dois casos extremos seriam: a) reações praticadas com excesso de sôro (anticorpo) e então dependentes principalmente da quantidade de antígeno presente; b) reações pra-

ticadas com excesso de antígeno e então dependentes quase totalmente da quantidade de anticorpo. Entre essas duas condições extremas a reação dependeria sensìvelmente tanto do antígeno como do anticorpo.

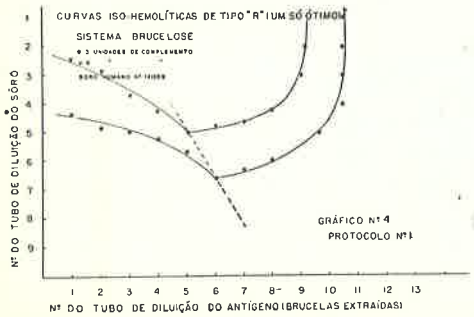


GRÁFICO Nº 4 — A projeção em papel duplo-logarítmico, demonstra nìtidamente a inflexão do ponto de máxima reatividade do antígeno

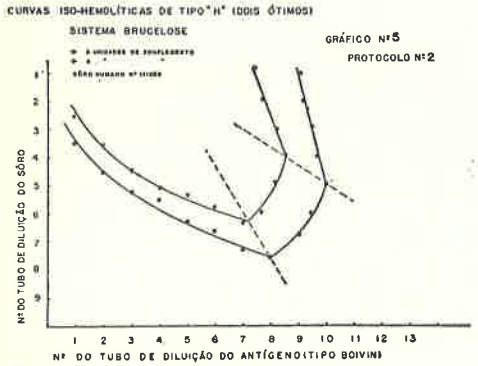


GRÁFICO Nº 5 — A projeção em papel duplo-logarítmico, demonstra nìtidamente duas inflexões correspondentes aos pontos de máxima reatividade do sôro e do antígeno

Nas reações de fixação de complemento, a dosagem do antígeno se faz em excesso constante de sôro, variando-se complemento e antígeno. Determina-se o título do antígeno pela inclinação da linha de regressão entre antígeno e complemento necessário para 50% de hemólise. De uma maneira simétrica, a dosagem do anticorpo é feita em presença de uma quantidade constante de antígeno desde que esteja em relativo excesso. Da relação linear entre complemento e sôro, determina-se o título dêste, pela inclinação da linha de regressão.

Essas condições são semelhantes às estipuladas pelas técnicas clássicas de medida de reação antígeno-anticorpo. A primeira condição corresponderia ao método de DEAN e WEBB (1926) ou processo α dos autores inglêses; a segunda, corresponderia ao método de RAMON (1922) conhecido na Inglaterra como processo β.

Assim no método α ou de DEAN e WEBB a quantidade de antisôro é mantida constante, variando-se a quantidade de antígeno; no método β ou de RAMON, várias quantidades de anti-sôro são juntadas a uma dose constante de antígeno. Tanto em um como em outro método, o **ótimo** de proporções entre antígeno e anticorpo depende das concentrações relativas e não absolutas dos reagentes. Essa demonstração foi feita por BOYD (1941) quando estudou a floculação da hemocianina de **Limulus** pelo anti-sôro preparado em coelho e em cavalo, pelo tempo necessário ao aparecimento de um nítido precipitado.

A projeção logarítmica das concentrações de antígeno de anti-sôro dos complexos imunes que floculavam num mesmo tempo, determinava linhas ou curvas isocrônicas de floculação que diferiam segundo a espécie do animal inoculado. O sôro imune de coelho não mostrava uma quantidade definida capaz de evidenciar um mínimo de antígeno; não existia uma «dose ótima de sôro» quando o processo **beta** era empregado.

Quando o processo **alfa** era usado, podia ser evidenciado «um ótimo de antígeno» capaz de pôr em evidência um mínimo de anticorpo.

Com tais características o anticorpo de coelho definia a classe R de BOYD.

Com soros preparados em cavalo, dois «ótimos» podiam ser determinados, um pelo processo **alfa** e outro pelo **beta.** Tal anticorpo seria do tipo H, segundo BOYD. A diferença de comportamento em face de um mesmo antígeno poderia ser explicada pela maior solubilidade dos anticorpos de cavalo. Nesse caso o precipitado formado por dose ótima de sôro seria solubilizado à medida que mais sôro estivesse presente na reação, com conseqüente diminuição da floculação e alteração da velocidade de reação. Êsse caráter H correria então por conta das pro-

priedades do complexo imune, afetado em sua solubilidade por excesso de anticorpo hidrofílico.

Nos casos de anticorpo não hidrofílico, o excesso de sôro não teria influência sôbre o complexo antígeno-anticorpo precipitado. Tal caráter de anticorpo do tipo R seria responsável por haver apenas uma inflexão na curva isocrônica, indicando um único **ótimo**, no processo **beta**. De acôrdo com BOYD o fenômeno dependeria de características próprias do anticorpo, classificado então em um dos tipos H e R.

Se, no entanto, fenômeno semelhante fôsse obervado com um único sôro e dois antígenos, já não se podia explicar a diferença entre curvas isocrônicas, pela qualidade (R ou H) de anticorpos. Então seríamos levados a admitir que o complexo antígeno-anticorpo seria do tipo **R** ou **H**.

Investigações no sistema brucelose, com um sôro de paciente e dois antígenos de **Brucella abortus** levaram-nos a admitir que o comportamento dos complexos imunes ora dependeria do anticorpo (caso de BOYD) ora do antígeno como na experiência aqui apresentada.

O mesmo sôro (nº 141059) reagindo com dois antígenos (brucelas extraídas e antígeno de Boivin) apresentou-se ora como R ora como H.

De acôrdo com o PROTOCOLO Nº 1, um único ótimo (procecso **alfa**) foi observado quando antígeno era a suspensão de brucelas extraídas. A curva seria do tipo R. Na parte vertical da linha de isofixação (processo **beta**) nenhum «ótimo» pode ser observado.

O mesmo sôro, no entanto ,reagindo com o antígeno de Boivin (PROTOCOLO Nº 2) apresentou dois ótimos, um pelo método **alfa** e outro pelo método **beta**, correspondendo à parte horizontal (antígeno) e a parte vertical (sôro) respectivamente da curva de isofixação, e podia então ser classificado como do **tipo H**.

Então R e H não seriam mais duas classes de anticorpos, como descreveu BOYD, mas dois tipos de complexos imunes cujo comportamento tanto dependeria do sôro como também poderia depender do antígeno.

Podemos esquematizar as condições em que BOYD (1941) e ALMEIDA (1961) realizaram suas experiências, respectivamente em curvas isocrônicas de precipitação e curvas isocrônicas de fixação de complemento, de acôrdo com o seguinte quadro:

Comparação das curvas isocrônicas de precipitação com as de fixação de complemento

BOYD (1941) **Curvas isocrônicas de precipitação**	**ALMEIDA (1961)** **Curvas isocrônicas de fixação de complemento**
Um único antígeno reagindo com dois soros de dois animais imunizados (coelho e cavalo).	Um único sôro reagindo com dois antígenos preparados de **B. abortus**.
Foram determinadas as quantidades de antígeno e de sôro capazes de por combinação produzirem um mesmo efeito (floculação ou fixação de complemento) no fim de um determinado período de tempo.	
Existe uma dose de antígeno capaz de reagir com um mínimo de **sôro imune de coelho**. Essa quantidade de sôro é também aquela capaz de se combinar com um mínimo de antígeno.	Existe uma dose mínima de antígeno insolúvel (B. extraída) capaz de reagir com um mínimo de sôro. Essa quantidade de sôro é também aquela que reage com a menor quantidade de antígeno insolúvel.

Existe um mínimo de antígeno capaz de reagir com certa quantidade de **sôro imune de cavalo.** É a dose ótima de sôro capaz de evidenciar um mínimo de antígeno.	Existe um mínimo de antígeno solúvel (Boivin) capaz de reagir com certa quantidade de sôro. Essa dose ótima de sôro é capaz de evidenciar um mínimo de antígeno.
Existe também uma certa quantidade de antígeno capaz de reagir com um mínimo de **sôro imune de cavalo.** É a dose ótima de antígeno capaz de evidenciar um mínimo de anticorpo.	Existe também uma certa quantidade de antígeno capaz de reagir com um mínimo de sôro. É a dose ótima de antígeno capaz de evidenciar a menor quantidade de anticorpo, para a reação com o antígeno solúvel.
Existem duas classes de complexos imunes. Uma R, caracterizada por ter um único ótimo de proporções entre antígeno e anticorpo. Outra, H, apresentando dois ótimos: um para o antígeno combinar-se com um mínimo de anticorpo e outro para o sôro combinar-se com um mínimo de antígeno.	Existem duas classes de anticorpos. Uma R, caracterizada por um único ótimo de proporções entre antígeno e anticorpo. Outra H, apresentando dois ótimos : um para o antígeno combinar-se com um mínimo de anticorpo e outro para o sôro combinar-se com um mínimo de antígeno.
A forma R e H das curvas isocrônicas de precipitação dependeria do tipo de anticorpo presente no complexo imune.	A forma R e H das curvas isohemolíticas de fixação de complemento dependeria das propriedades de solubilidade do complexo imune, ora por efeito do sôro (anticorpo) ora por influência do antígeno.

RESUMO

Curvas isocrônicas como as descritas por BOYD (1941) definindo os tipos R e H de anticorpo, puderam ser comparadas com as curvas isohemolíticas em reações de fixação de complemento.

Essas curvas foram observadas quando o extrato de Boivin e as bactérias tratadas, preparados de **Brucella abortus**, foram empregados como antígeno com um sôro humano de alto título aglutinante, em reações quantitativas de fixação de complemento.

Portanto, os tipos R e H de curvas isocrônicas estão relacionadas com ambos os componentes do complexo imune, anticorpo ou antígeno, e não a um sòmente dêles.

R e H seriam mais apropriados para definir tipos de complexos imunes do que tipos de anticorpos, como prèviamente descrito.

SUMMARY

Isochronic curves as those described by BOYD (1941), defining the R and H types of antibodies, could be compared with the isohemolytic curves in complement-fixation reactions.

These curves were observed when BOIVIN extract and treated bacteria, prepared from **Brucella abortus**, were employed as antigens with one high titer agglutinating human serum in quantitative C. F. tests.

Therefore, the R and H types of isochronic curves are related to both of the components of the immune-complex, antibody or antigen, rather to one of them only.

R and H would be more appropriate for defining types of immune-complexes, than types of antibodies, as previously described.

REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA, J. O., 1947, Equivalência entre tempo de hemólise e concentração de complemento. Rev. paulista med., **30**:44-45.
2. ALMEIDA, J. O., 1950, Técnica da reação de Wassermann quantitativa. Emprêgo do colorímetro foto-elétrico na padronização dos reagentes e na leitura da reação. O Hospital, Rio de Janeiro, **35**:847-898.
3. ALMEIDA, J. O., 1956, Isofixation curves as a method of standardization of

quantative complement fixation test, J. Immunol., **76**:259-263.

4. ALMEIDA, J. O., 1961, Estudo da reação quantitativa de fixação de complemento com antígeno de **Brucella abortus.** Tese da Faculdade de Medicina de Ribeirão Prêto. Mimeografado. 216 pp.
5. BOYD, W. C., 1941, Influence of character of antibody upon velocity of flocculation. J. Exper. Med., **74**:369-386.
6. DEAN, H. R. & WEBB, R. A., 1926, The influence of optimal proportions of antigen and antibody in the serum precipitation reaction. J. Path. Bact., **29**:473-492.
7. LEON, A. P. & BERNAL, E., 1948, Identification de la especie de Brucella infectante, por la reaction de fijación del complemento en los casos de Brucelosis. Rev. Inst. salub. y enferm. trop., **9**:199-229.
8. PIROSKY, I., PIROSKY, R. & D'ALESSANDRO, N. B., 1941, El antigeno glicido-lipido como fijador de complemento. I. En Brucella Rev. Inst. bact. Malbran, **10**:135-143.
9. VON KROGH, M., 1916, Colloidal Chemistry and Immunology, J. Infect. Dis., **19**:452-477.

PROTOCOLO N.° 1 (Gráfico N.° 2)

CURVAS DE ISOFIXAÇÃO COM ANTÍGENO DE «BRUCELLA ABORTUS» EXTRAÍDA

SÔRO DIL. 141059	Diluições de antígeno 1:									
	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120
	Hemólise % com 3 unidades de complemento									
2	0	0	0	0	0	0	0	40	80	100
4	0	0	0	0	0	0	0	65	90	100
8	0	0	0	0	0	0	10	75	100	
16	0	0	0	0	0	0	15	80	100	
32	40	0	0	0	0	0	25	85		
64	80	35	0	0	0	0	35	90		
128	85	85	70	60	10	15	40	90		
	Hemólise % com 6 unidades de complemento									
2	0	0	0	0	0	35	95			
4	0	0	0	0	0	70	100			
8	0	0	0	0	0	85	100			
16	15	0	0	0	10	100				
32	100	70	15	30	80	100				
64		100	90	100	100					
128			100							

Complemento $C_1 = 45—50$
$C_2 = 100—100$

Contrôle do sôro 141059
$S_1 = 40—45$
$S_2 = 100—100$

Antígeno Boivino $A_1 = 35—45$
$A_2 = 90—95$

Antígeno B. extraída
$A_1 = 45—45$
$A_2 = 100—100$

PROTOCOLO N.º 2 (Gráfico N.º 3)

CURVAS DE ISOFIXAÇÃO COM ANTÍGENO DE BOIVIN E SÔRO 141059

SÔRO DIL.	Diluições de antígeno 1:											
	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	20480
	Hemólise % com 3 undades de complemento											
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35	85	100
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	80	100
8	25	0	0	0	0	0	0	0	0	5	60	100
16	100	65	0	0	0	0	0	0	0	35	90	100
32	100	100	90	15	0	0	0	0	15	80	100	
64			100	100	75	30	35	50	80	100		
128					100	100	100	100	100			

Hemólise % com 6 unidades de complemento

2	0	0	0	0	0	0	0	0	35	100		
4	0	0	0	0	0	0	0	0	25	95		
8	100	40	0	0	0	0	0	0	50	100		
16		100	85	10	0	0	0	25	100			
32			100	100	100	100	100	100				

Rev. Bras. Microb., 1963, 4 (1/2): 13-16

ESTUDO BACTERIOLÓGICO NO DINHEIRO-PAPEL

MARINA CHARÃO DA SILVEIRA *

(Recebido para publicação em 27 de agôsto de 1963)

INTRODUÇÃO

Êste trabalho foi realizado com a intenção de pesquisar a natureza e o número dos germes que por ventura estivessem contaminando o dinheiro-papel e, dando especial atenção aos patogênicos, avaliar da posição ocupada pelas cédulas na disseminação de enfermidades bacterianas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas notas nos mais diferentes pontos da cidade de Pôrto Alegre, em número de 80, cujo valor variava entre um e duzentos cruzeiros, sendo de maior freqüência as de 10 e 20.

Tiveram preferência as cédulas mais velhas e rasgadas, e, quando algumas delas estava consertada com fita adesiva ou esparadrapo, êstes materiais eram prèviamente retirados, porque êles contém substâncias químicas que agem como desinfectantes, podendo, nas conclusões finais, dar um falso resultado.

Seguiu a autora dêste trabalho, um roteiro preestabelecido, que se resume no seguinte:

1) Imersão da nota em 20 mil de água destilada estéril, durante 3 a 4 horas.

2) Fazer diluições 1:10, 1:100, 1:1.000, 1:10.000, etc.; tomar 1 ml destas e fazer inoculações «pour plate», em Agar Nutritivo a 1,5% (1), para verificar o aparecimento de colônias nas placas, depois de passarem 24:00 na estufa e 24:00 em temperatura ambiente. Contagem das colônias.

3) Inocular algumas gôtas da solução inicial em gelose-sangue (2), para a verificação de colônias hemolíticas após 24:00 na estufa.

4) Inocular algumas gôtas da solução inicial no meio de Chapman (3), para verificar o aparecimento de colônias de estafilococo e posteriormente confirmar sua patogenicidade com a prova da estafilo-coagulase (4) e fermentação da manita.

5) Inocular algumas gôtas da solução inicial no meio de Hitchens-Pike (5), para verificar a presença de estreptococos.

6) Inocular algumas gôtas da solução inicial em meio de enriquecimento de Kauffmann (6), deixando na estufa 24:00 e 48:00. Dêste meio, repicar em meio seletivo SS (7). Se depois de 24:00 na estufa ainda não houver crescimento no meio seletivo, nova inoculação do meio enriquecedor (48:00). Houve casos em que só a segunda semeadura deu crescimento. As colônias obtidas eram semeadas em glicose, lactose, uréia (8), Simmons (9) e CV (10).

7) Verificação do «Mycobacterium tuberculosis».

A — Usou-se para isso técnica de Corper, modificada por Magarão, para a cultura inicial:

a) Centrifugar 10 ml da solução inicial, de 4.000 a 4.400 rpm. durante 60 minutos.

b) Desprezar o sobrenadante.

c) Ressuspender o sedimento em 1 ml de água destilada estéril.

d) Adicionar 1 ml de fosfato trissódico, a 15%. Deirar na estufa por 24:00.

---

* Do Instituto de Microbiologia da U. R. G. S..

** O presente trabalho foi realizado no Instituto de Microbiologia da U. R. G. S., em Pôrto Alegre e apresentado na reunião da Sociedade Brasileira de Microbiologia, seção do Rio Grande do Sul, em 26 de junho de 1963.

e) Neutralizar a solução com uma quantidade exatamente igual de fosfato monossódico, a 13%.

f) Inocular algumas gôtas desta mistura em 3 tubos de Loewenstein-Jensen (11), deixando-os na estufa pelo espaço de 20 a 30 dias, tendo-se o cuidado de fazer uma leitura diária.

B — Das culturas positivas, foram feitas emulsões para inocular cobaias e camundongos, obedecendo a seguinte técnica:

a) Colheita de 1 a 2 alças de platina (4 mm de diâmetro) de cada tubo, tendo-se o cuidado de retirar colônias de vários lugares da superfície do meio.

b) Emulsão das colônias (total de 3 a 4 alças) em 10 ml de salina estéril, em frascos com pérolas de vidro.

c) Agitação mecânica (agitador de Kahn) das suspensões bacterianas, durante 20 a 25 minutos, a fim de ser conseguido um aspecto homogêneo.

d) As suspensões bacterianas, logo após a agitação eram deixadas em repouso por 30 a 60 minutos, para que houvesse a sedimentação dos grumos ainda existentes. Regra geral, obtínhamos uma suspensão igual ou ligeiramente superior ao tubo 1 da escala de MacFarland.

e) Injetou-se a suspensão de cada cultura positiva, em duas cobaias na dose de 0,10 ml por via intra-peritoneal e em dois camundongos na dose de 0,01 ml por via intra-venosa.

f) As cobaias foram prèviamente testadas pela tuberculina antes de serem inoculados.

g) Os animais inoculados foram necropsiados após 30 dias.

RESULTADOS

Do estudo feito, chegamos aos seguintes resultados:

1) O número de germes encontrado nas notas variou de 1.900 até mais de..... 10.000.000.000, sendo os números próximos ou superiores a 1.000.000, os de maior freqüência (gráfico).

2) Tôdas as notas deram cultivos com cocos gram-positivos e bacilos gram-negativos, sendo que em 42 foram encontrados cocos hemolíticos.

3) A presença do «Staphylococcus» não hemolítico, em 9 notas, o que equivale a 11,25%.

5) Os bacilos gram-negativos encontrados, ficaram classificados nos seguintes gêneros:

«Alcaligenes» em 2 notas = 2,5%.
«Escherichia» em 7 notas = 8,75%.
«Klebsiella» em 4 notas = 5,0%.
«Pseudomonas» em 6 notas = 7,%.
«Shigella» em 1 nota = 1,25%.

6) Não foi observado o «Mycobacterium tuberculosis» em nenhuma nota, entretanto, em 4, foram encontrados micobactérias saprófitas na proporção = 5,0%.

O gráfico abaixo mostra a incidência dos germes dos itens 3, 4, 5 e 6.

LEGENDA:
Es = ESCHERICHIA
Al = ALCALIGENES
K = KLEBSSIELLA
M = MICOBACTÉRIAS
Ps = PSEUDOMONAS
Sh = SHIGELLA
Sf = ESTAFILOCOCO
St = ESTREPTOCOCO

CONCLUSÕES

1) Como era de se esperar, no dinheiro-papel foi possível evidenciar a presença de bactérias patogênicas.

2) A técnica empregada mostrou-se satisfatória em seus resultados.

3) Em face da conclusão 1, recomenda-se a continuação dos estudos, no sentido de estabelecer a significação do dinheiro-papel como veículo de disseminação das doenças infecciosas.

SUMÁRIO

A autora estuda a contaminação do dinheiro-papel, com a intenção de atribuir ao mesmo uma posição como veículo na disseminação de enfermidades bacterianas.

Em 80 notas, a autora isolou o «Staphylococcus aureus» (57,5%), estreptococos não hemolíticos (11,25%) «Alcaligenes» (2,5%), «Escherichia» (8,75%), «Klebsiella» (5,0%), «Pseudomonas» (7,5%), «Shigella» (1,25%) e micobactérias saprófitas (5,0%).

Conclui a autora pela necessidade de prosseguir as pesquisas, em face dos resultados obtidos.

SUMMARY

The author studies the contamination of money (bills(and investigates its possible ro'e in the propagation of bacterial diseases.

In 80 bills, the author isolated «Staphylococcus aureus» (57,5%), non-hemolytic streptococci (11,25%), «Alcaligenes» (2,5%), «Escherichia» (8,75%), «Klebssiella» (5 0%), «Pseudomonas» (7,5%), «Shigella» (1,25%) and saprophytic mycobacteria (5,0%).

The author conludes that the research must be continued, as indicated by the obtained results.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(2) Hosty, Freeman e Irwin. — Public Health Lab., 11:143, 1953.

(3) J. Milk and Food Tech., 13:266, 1950.

(4) Cadness-Graves, B., Williams, R., Harper, G. J., and Miles, A. A., 1943, Slide-test for coagulase-positive Staphylococci. Lancet, 1, 736-738.

(5) Solé-Vernin, C. — Estudos sôbre estreptocos — II Questões técnicas de anaerobióse com relação aos estreptococos facultativos. —.Anais de Microbiologia. 4:21, 1956.

(6) Zentralb. f. Bakt., I Abt., Orig., 113: 148, 1930-31. Zeit. Hyg., 117:26, 1935-1936.

(7) Difco Manual — 9.ª Edition — Difco Laboratories Incorporated — Detroit, 1, Michigan — 1958.

(8) Proc. Exptl. Biol. Med. 47:108, 1941. J. Bact. 49:437, 1945.

(9) J. Infect. Dis. 39:209, 1926.

(10) Costa, G. A. & Vernin. C. S. 1955. Sôbre uma modificação do meio de Monteverde. Mem. Oswaldo Cruz, 53:105, 114.

(11) Zentralb. f. Bakt., I Abt., Orig. 120: 127, 1931. — Ann. Inst. Pasteur, 50: 161, 1953. —
Zentralbl. f. Bakt., I Abt., Orig. 125: 222, 1932.

Rev. Bras. Microb., 1963, 4 (1/2): 17-18

CULTURA DA LISTERIA MONOCYTOGENES

GENESIO PACHECO e MARGARIDA BARROSO *

(Recebido para publicação em 10 de outubro de 1963)

Embora lento, o crescimento da listeria se faz bem nos meios artificiais de cultura. Tal qual sucede com outros germes, sobretudo nas culturas iniciais, quando não se adaptaram àqueles meios, há certa demora no crescimento. De outro lado a quantidade de listerias crescidas não é sempre suficientemente grande para obtenção da massa de germes bastantes à preparação de antígenos para provas aglutinantes, alérgicas e outras.

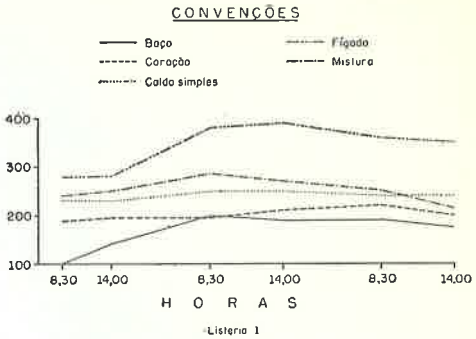
Utilisamos inicialmente culturas de listerias com a técnica da criocultura de Gray (1), que alia a vantagem da ação impediente aos germes de associação, pela baixa temperatura, à ação favorecedora da multiplicação das listerias, embora lenta.

Posteriormente tentamos com êxito o emprêgo do meio de Tarozzi, no qual obtivemos bôa multiplicação, conservando a fase lisa do germe, que representa dupla vantagem, portanto.

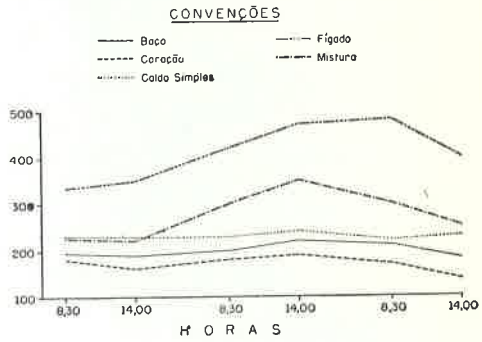
Em vista disso resolvemos ensaiar comparativamente meios preparados com vários órgãos: fígado, baço, coração, mistura dêsses órgãos e caldo peptonado simples.

Êsses meios eram preparados: órgão fresco, passado em liquidificador 100 grs, ferver 40 m; filtrar por papel de filtro, mais de uma vez. Ajuntar ao filtrado NaCl 4.2 gr, pertona 5 gr. Autoclavar para estabilização, acertar o pH a 7.2. Filtrar por papel. Distribuir. A **mistura** era feita com partes iguais dos órgãos moíd-s no liquidificador e tomada a mesma quantidade de água acima, para preparação do meio.

A semadura era feita 24 hs antes do início das leituras. Estas eram realizadas no fotometro no Klett, filtro **54** (verde). A microscopia dos esfregaços mostrou que o meio com fígado produziu crescimento superior aos dos outros órgãos, como se vê nos gráficos.



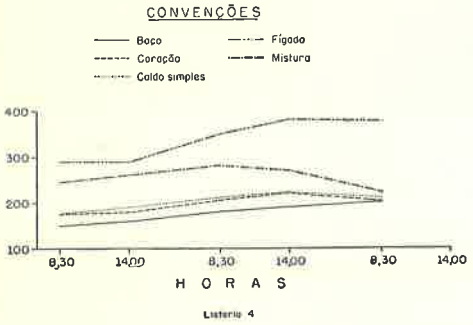
Listeria 1



Listeria 2

* Instituto de Puericultura, Divisão de Pesquisas.

(1) Gray, M. L. — J. Am. Vet. Med. Ass., 11:171, 1949.



Esfregaços das culturas de uma gôta sôbre lâmina revelaram, ao exame bacterioscópico, sensível aumento do número de germes por campo microscópico, confirmando aumento de crescimento das listerias, no caldo fígado.

A inoculação de culturas da listeria 4 preparadas em meio de fígado acima e em caldo peptonado, após 48 hs a 37°, deu o seguinte resultado:

O aumento da ação patogênica pode ter dependido do número de germes crescidos nas culturas do meio com fígado, não foi apurado. O que interessava era o melhor crescimento conservando a vitalidade do germe.

SUMMARY

The authors verified better growth of **Listeria monocytogenes** on the Tarozzi's medium than in beef extract broth. It was tried to determine the effect of different fluid media made out of several organs (live, spleen, heart and a mixture of this organs), with peptone, as compared to beef extract broth.

The results were verifified at Kletts photometer and are shown in the graphics. The liver medium was better than all others. A deeper clouding of the medium corresponds to a larger number of germs. The culture of liver media maintain the pathogenic activities of the listeria.

DILUIÇÕES

Meio de cultivo	Pura	1:5	1:10
Caldo fígado	2/3	1/3	0/3
Caldo simples	1/3	0/3	0/3

Crônica

ENSINO DA MICROBIOLOGIA

A uniformização dos métodos e programas de ensino da Microbiologia é um assunto a discutir com relação a suas vantagens e desvantagens. Certos aspectos, entretanto, podem e devem ser examinados, reservando-se para uma mesa redonda ou simpósio discussão pormenorizada da matéria.

Nesta crônica abordaremos alguns pontos de grande significação para o ensino da microbiologia.

a) Relações com as cátedras — É de grande vantagem o estabelcimento de relações culturais entre as cátedras, para intercâmbio de idéias, aproximações dos professôres e aperfeiçoamento de métodos de ensino. Com êsse fim as cátedras convidariam professôres e assistentes de outras entidades para realizar conferências sôbre assuntos em que sejam versados. Mais que quaisquer outros teriam facilidade nesse intercâmbio, a vista das possibilidades de passagem e estadia com fins culturais, fornecidas pelas Universidades ou por s/Fundos de Pesquisa ou de Cultura.

b) Organização de mapas, gráficos, diapositivos, filmes, técnicas, com possíveis demonstrações, em regime de troca em auxílio mútuo e expontâneo entre as cátedras para melhora do ensino.

c) Organização de cursos de pós-graduação, com aulas professadas por especialistas nos respectivos assuntos, com a formação de uma espécie de professôres itinerantes.

d) Publicação de um boletim informativo, cometido às cátedras, em regimem rotativo, para incentivar o aperfeiçoamento entre elas.

e) Interessar Instituições ligadas ou não às Universidades, mas com interêsse cultural geral, em cooperação, em cursos, conferências e demonstrações técnicas.

f) Organização em Instituições idôneas, como o Instituto Oswaldo Cruz, Laboratórios de Saúde Pública, ou com atividades correlatas, para organização de:

1) Microbioteca, inclusive de protozoários, para aplicação e fornecimento às cátedras, Instituições culturais e à indústria.

2) Preparo de antisoros e antígenos específicos, padronisados, para aferir produtos biológicos e ensino de técnicas de sua preparação, dosagem e métodos diagnósticos.

Acreditamos que esta orientação faria progredir e aperfeiçoar consideràvelmente o ensino da microbiologia e contribuiria para a formação e aperfeiçoamento dos técnicos dessa especialidade.

BIBLIOTECA DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Se em certos ramos do conhecimento, como na física, na química e outros, o contacto com os livros é a base para saber o que se fêz até então, êsse conhecimento é fundamental para o progresso das investigações. Hoje não é difícil ter uma idéia, o essencial é saber se a idéia é nova, isto é, se não foi ainda pensada ou perlustrada. E só uma bôa biblioteca, que é o repositório dos conhecimentos pode fornecer os elementos para sabê-lo.

Desde cêdo Oswaldo Cruz cogitou em organisar uma biblioteca especialisada que se tornou a maior e mais completa da América Latina. Por si só ela vale mais que o Instituto inteiro, sobretudo porque seria impossível refazê-la.

Felizmente entregue a mãos proficientes e dedicadas, extraimos de uma publicação da atual bibliotecária os dados para esta notícia que interessa a todos, porque essa biblioteca não é suficientemente conhecida, aliás, como muitas coisas brasileiras dignas de o serem.

Excerptos do Trabalho de Emília Bustamante, chefe da Biblioteca do Instituto. «As Bibliotecas especialisadas como fontes de orientação na pesquisa científica de 1958».

*

«A Biblioteca do Instituto Oswaldo Cruz possui, atualmente, 160.000 volumes, em sua quase totalidade constituída por coleções de periódicos referentes a Medicina, Biologia e Ciências Naturais.

Não se pode avaliar sua significação pela quantidade e sim pela qualidade das obras ali colecionadas. Trata-se de material bibliográfico que pode ser considerado raro. Algumas de nossas coleções abrangem de um a dois séculos e seria exaustivo enumerá-las. Basta citar algumas: Annales de Chimie et de Physique, desde 1789; Annalen der Physik, desde 1890; Proceedings of the Royal Society London, desde 1800; Flora oder allgemeine Botanische Zeitung, desde 1819; Lancet, des-

Salão de leitura

de 1824; Justus Liebig's Annalen der Chemie, desde 1832; Virchows Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie und Klinische Medizin, desde 1847; Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, desde 1868; Zoological Record, desde 1864; e muitas outras, em coleções completas. De todos os ramos da Ciência ligados aos interêsses da pesquisa, possui a Biblioteca obras clássicas, como: Rabenhorst, L. — Kriptogamen — Flora, 1881; Saccardo, P. A. Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum, 1882; ed. original; Kolle und Wassermann — Handbuch der pathogenen Mikroorgnismen, edições de 1902, 1912 e 1927; Schulze, F. E. (ed.) — Das

Tierreich, 1896; Witsman, P. (ed.) — Genera insectorum, 1902; Beilstein, F. K. — Handuch der organischen Chemie, 1893; 1918; Martius — Flora brasiliensis, 1840; Abderhalden. E. — Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, 1925 etc.».

*

«Hoje, depois de algumas modificações de ordem técnica que julgamos convenientes, está assim dividida a Biblioteca do Instituto Oswaldo Cruz.

1) Aquisição
2) Referência
3) Livros (com um pequeno «Departamento de Obras Raras»)
4) Periódicos
5) Expedição de publicações e Permuta de duplicatas
6) Encardenação
7) Serviços de microfilmes
8) Coleções especiais
9) Registro de atividades

1) **AQUISIÇÃO**

Anualmente são adquiridas, no Rio e no Exterior, obras relacionadas com os assuntos de interêsse da Instituição, com particular atenção às obras de Referência. São renovadas as assinaturas das revistas e incluídos novos títulos.

Sistemàticamente se tem procurado adquirir todos os volumes ou fascículos de periódicos em falta nas coleções.

Para tôdas essas aquisições, existe, atualmente, uma verba anual de (Cr$ 1.800.000,00) 4.000.000,400.

Orientamo-nos, para essas aquisições, não só pelos catálogos de editores, mas principalmente pelos pedidos e sugestões dos técnicos.

Também, por permuta com as publicações do Instituto e permuta de duplicatas ou doações, muito material bibliográfico é adquirido. Elevam-se, em média, a 1.000 volumes as obras recebidas anualmente e a 13.000 unidades, os periódicos.

2) **REFERÊNCIA**

Para que todo êsse material seja bem aproveitado, está a Biblioteca aparelhada com uma Seção de Obras de Referência, constituída por 3.500 volumes, que incluem, além das enciclopédias e dicionários gerais, enciclopédias especializadas, dicionários técnicos e tôda as bibliografias retrospectivas e correntes, «abstracts», indexes», atlas, listas de instituições científicas, guias, «Who's Who», etc.

Localizada no Salão principal da Biblioteca esta seção é organisada por assunto. Para facilidade de consulta, são mantidos Catálogos especiais de Autores, de Assuntos e de Títulos, com acesso livre aos consulentes.

3) **LIVROS**

Recebem tratamento distinto as obras pròpriamente ditas, que constituem a Seção de Livros, e as revistas, que constituem a Secção de Periódicos.

Usamos a Classificação Decimal Universal de Bruxelas, abandonando alguns símbolos. Mantemos o Catálogo Sistemático de Assuntos, o de Autores e a Lista de Cabeçalho de Assunto.

Para comodidade dos técnicos, o Catálogo Sistemático de Assuntos é mantido em livros de fôlhas sôltas, podendo ser consultado, nos laboratórios, para escolha das obras que interessarem, cabendo à Biblioteca, apenas, o trabalho de fornecê-las.

Para catalogação, seguimos as «Normas para Catalogação de impressos da Biblioteca Apostólica Vaticana».

A mesma orientação é dada aos folhetos e teses.

27.964 — Atinge a (26.370) o número de obras catalogadas. Convém ressaltar que nos referimos a obras e não volumes, pois muitas delas têm alguns volumes, até dezenas.

A Seção de Livros inclui um pequeno Departamento de Obras Raras que só podem ser consultadas na Biblioteca. Entre elas podemos citar: Pisonis G. De Medicina Brasiliensi, 1648; Redi — Experimenta circa geberationem insectorum, 1671; De Laporte et Gory — Histoire Naturelle et iconographie des inséctes coleoptéres, 1837; um Formulário Médico (manuscrito) de 1703, encontrado na Igreja de S. Francisco de Curitiba e atribuído aos Jesuitas, e outras mais.

4) **PERIÓDICOS**

É esta, sem dúvida, a Secção de maior realce na Biblioteca, não só por abranger

material mais interessante para a pesquisa, como pelas excelentes coleções que possui.

Num exame retrospectivo, encontramos os seguintes dados: em 1907, a Biblioteca possuía 98 títulos de periódicos; em 1909, depois da Exposição International de Higiene, em Berlim, na qual foi concedido ao Brasil o primeiro prêmio (medalha de ouro doada pela Imperatriz da Alemanha). O nome do Instituto teve tal projeção no estrangeiro, que tôdas as facilidades lhe foram proporcionadas. Com isto, muito se beneficiou, também, a Biblioteca, ficando sua Lista de Periódicos aumentada para 421 títulos; em 1941, esta cifra se elevou a 2.443, tendo atingido em 1957, a 4.300 títulos, uma parte dos quais é de publicações que já não se editam.

Usamos, para os periódicos, a localisação fixa, com arrumação própria, que tem dado excelente resultado. O Catálogo em fichas verticais (Catálogo de Registro) contém, além do título e da localisação, o nome do editor e seu endereço, bem como outras informações sôbre o periódico. É disposto pelo número de registro da coleção. Uma LISTA ALFABÉTICA DE PERIÓDICOS remete o consulente ao catálogo. São também os periódicos classificados por assunto e por país, mantendo-se, para isto, catálogos Sistemático de Assunto e Geográfico.

Atualmente estamos recebendo, por assinatura, 639 periódicos e, por permuta, 1.060, num total de 1.699.

Semanalmente, e depois de «preparadas», as revistas são expostas no Salão de Leitura, acompanhadas das respectivas listas bibliográficas, para vista dos técnicos. As listas destinam-se a manter o consulente a par das publicações chegadas, se êle não teve oportunidade de visitar a Biblioteca durante a semana, e são conservadas, na Biblioteca, durante 3 anos, podendo ser consultadas a qualquer momento durante êsse tempo.

No período da exposição, as publicações não são fornecidas, mas podem ser reservadas pelos interessados e lhes serão encaminhadas posteriormente.

O empréstimo, tanto de revistas quanto de livros, é limitado aos técnicos do Instituto e pelo prazo de 30 dias, podendo ser renovado êste prazo sempre que se fizer necessário. Aos leitores estranhos ao Instituto só é permitida a consulta na Biblioteca.

Para facilitar o trabalho dos pesquisadores e cientistas em geral, estamos tratando da publicação do nosso Catálogo de Periódicos».

*

«A Biblioteca está aparelhada com um completo serviço de microfilmagem. O aparelho de confecção de microfilmes é automático e preciso, com ajustamento em escalas por altura, avanço automático da película, depois de exposta, e caixa de provisão que em capacidade para 120 m de filmes de 35 mm, além de outras vantagens de ordem técnica. Também são feitas em tamanhos variáveis cópias positivas, ampliadas de películas negativas. A média anual de páginas solicitadas é de 9.000. Existe também um aparelho para leitura de microfilmes.

*

«Separadas do acervo geral, estas coleções são constituídas pelas bibliotecas particulares de Oswaldo Cruz, Carlos Chagas, Cezar Guerreiro e Rocha Faria».

A SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA aceita como sócios tôdas as pessoas interessadas nas atividades e no desenvolvimento da Microbiologia no Brasil, tal como, técnicos, assistentes, pesquisadores, instrutores, professôres e outros grupos profissionais. São seus objetivos agremiar os microbiologistas brasileiros, estimular a pesquisa científica e suas aplicações, manter intercâmbio e fazer aproximação com outras sociedades e instituições.

A S.B.M. edita a REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA, destinada à publicação de trabalhos originais e ao registro de notícias e acontecimentos de interêsse para o microbiologista.

A S.B.M. vem realizando reuniões anuais para o congraçamento e contato entre os seus sócios das diversas Seções Regionais, e conhecimento das linhas de pesquisa em andamento nas diversas instituições de pesquisa do país.

São obrigados os sócios da S.B.M. a uma anuidade de Cr$ 400,00, recebendo gratuitamente a REVISTA e outras publicações que, eventualmente, a Sociedade venha a editar.

A fórmula abaixo pode ser usada para a proposição de um associado, desde que devidamente assinada por dois sócios quites.

SOCIEDADE BRASIELRA DE MICROBIOLOGIA

FUNDADA EM 28 DE SETEMBRO DE 1956

PROPOSTA PARA SÓCIO

Os abaixo assinados, sócios da S. B. M., propõem para o Quadro Social da Sociedade, na categoria de Sócio ..... *o Senhor* .....

...., ... *de* ..... *de* .....

Assinaturas dos proponentes : .....

.....

Assinatura do proposto : .....

INFORMAÇÃO SÔBRE O PROPOSTO

Nome por extenso .....

Idade ..... *anos. Sexo* ..... *Estado civil* .....

Nacionalidade .....

Naturalidade .....

Endereço ..... *Tel.:* .....

Faculdade em que se diplomou .....

Atividade profissional .....

Endereço profissional ..... *Tel.:* .....

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

Aos autores de artigos serão fornecidos gratuitamente 25 separatas. Para quantidades maiores serão necessários entendimentos prévios, sendo cobradas as separatas 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$ 400,00, para o estrangeiro — US$ 2,00; Número avulso : para o Brasil — Cr$ 200,00; 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 e 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"*.

Tôda correspondência deve ser dirigida à Redação da
REVISTA BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA
Caixa Postal 6 - ZC-02 — Botafogo — Rio de Janeiro (GB)

Publicada pela SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA

GRAFICA MILONE LTDA.
Rua Pref. Olímpio de Melo, 897-A
RIO DE JANEIRO — GUANABARA