

Volume 4 Número 1 Jan.-Mar. 1973

**Órgão Oficial da Sociedade Brasileira de Microbiologia
São Paulo – Brasil**



Jarras GasPak

nova dimensão no sistema

BBL para anaeróbios

As infecções devidas aos germes anaeróbios são muito mais frequentes do que deixam supor os exames de laboratório. De fato, estes germes foram mal conhecidos durante muito tempo, por ser bastante complicada a sua identificação nas condições utilizadas até agora.

Hoje, o sistema BBL oferece simplicidade de trabalho e segurança nos resultados desses exames, imprescindíveis em todos os laboratórios pela multiplicidade de aplicações que representam, sejam na clínica, no ensino, na pesquisa ou na indústria.

PRINCÍPIO

As jarras GasPak permitem a obtenção de uma anaerobiose perfeita, numa hora, sem auxílio de qualquer aparelho anexo. Em policarbonato, material transparente, autoclavável, realizam as condições ótimas de higiene e visualidade. Os envelopes GasPak são geradores de hidrogênio e de gás carbônico que permitem realizar, sem bomba de vácuo, uma atmosfera inerte no interior da Jarra Anaeróbia.

Os dois componentes de base são:

- Um gerador de hidrogênio + um gerador de gás carbônico.
- Um catalisador de paládio agindo à temperatura ambiente. Por adição de 10 ml de água no envelope GasPak, há desprendimento de hidrogênio e gás carbônico. Sob o efeito do catalisador, o hidrogênio reage com o oxigênio do ar presente na jarra, para formar água; cria-se assim uma atmosfera anaeróbia.

O gás carbônico produzido favorece a multiplicação de certos microorganismos que se desenvolveriam mal ou seriam inibidos na ausência deste gás. Um indicador constituído por uma banda de papel de filtro emborrachado numa solução de azul de metileno, permite controlar visualmente a anaerobiose.

Para maiores detalhes, consultar o nosso

Departamento de Microbiologia:

BIOLAB-MÉRIEUX
PRODUTOS PARA LABORATÓRIOS LTDA

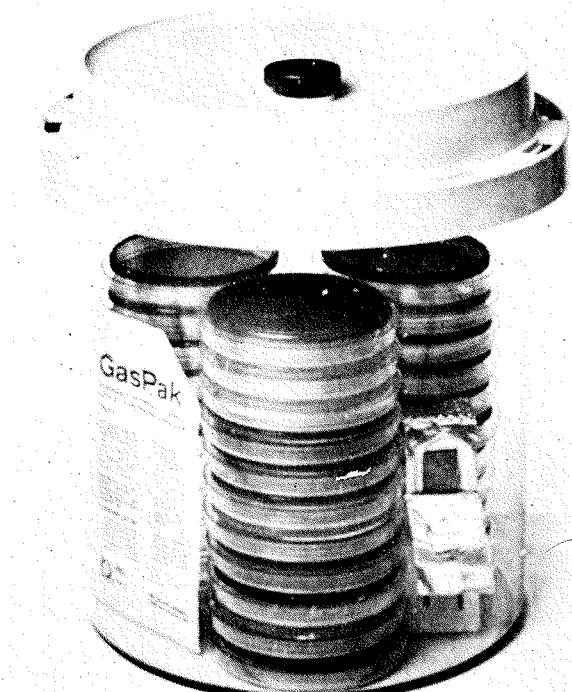
Rua do Resende, 96-A – Gr. 201 e 202. Tels.: 221-4089 e 242-0050

Rio de Janeiro, Gb. – 20.000 – ZC-06

São Paulo – Brasília – Porto Alegre – Niterói – Recife



JARRA ANAERÓBIA "100"



JARRA ANAERÓBIA "150"



Revista de Microbiologia

**Órgão Oficial da Sociedade Brasileira de Microbiologia
São Paulo – Brasil**

Conselho Editorial Luiz Rachid Trabulsi, Italo Suassuna e Wilson Chagas de Araujo

Editor João Salvador Furtado
Instituto de Botânica
Caixa Postal 4005
01000 São Paulo SP

Editores Associados Antônio F. Pestana de Castro e Sílvio A. C. Camba

Aquisição por não-membros Assinatura anual para quatro números: Cr\$ 100,00 para o Brasil; US\$ 15.00 (via marítima) ou US\$ 20.00 (via aérea) para o Exterior. Números avulsos: Cr\$ 25,00 para o Brasil e US\$ 5.00 (via aérea) ou US\$ 4.50 (via marítima) para o Exterior. Cheques ou ordens de pagamento em nome da Sociedade Brasileira de Microbiologia, para o endereço do Editor.

Aquisition by non-members Annual subscription for four numbers: US\$ 15.00 (surface mail) or US\$ 20.00 (air mail). Single copies: US\$ 5.00 (air mail) or US\$ 4.50 (surface mail). Checks or money orders for Sociedade Brasileira de Microbiologia, addressed to the Editor's office.

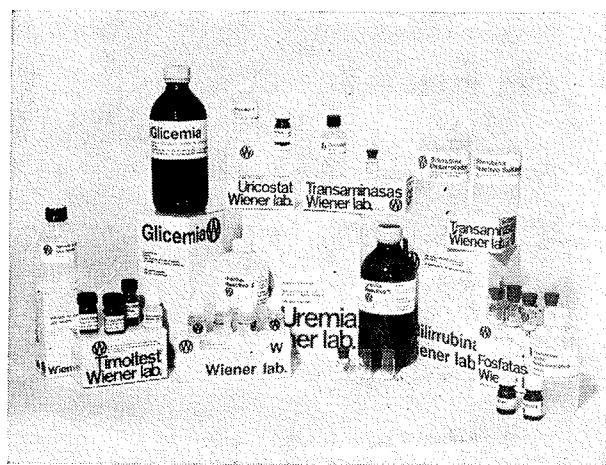
Sociedade Brasileira de Microbiologia

Diretoria Luiz Rachid Trabulsi, Presidente. Laerte M. de Andrade, Vice Presidente. Wilson Chagas de Araujo, Secretário Geral. João S. Furtado, Tesoureiro.

Conselho Científico Amadeu Cury, Augusto E. Taunay, A. Monteiro Filho, Carlos da Silva Lacaz, Ciro A. Peluffo, Dácio de A. Christóvão, Dirce Franco de Araujo, Eduardo O. Cisalpino, Gobert A. Costa, Homero S. Jobin, Jandira Planet do Amaral, João Xavier Viana, José Noronha Peres, José Oliveira de Almeida, Lúcio P. de Carvalho Lima, Luiz Siqueira Carneiro, Milton Fontes Magarão, Oswaldo G. de Lima, Otávio Barachini, Otto G. Bier, Paulo de Góes, Raymundo A. C. Moniz de Aragão, Seymour H. Hutner, Werner K. Maas.

Delegados Regionais ALAGOAS: Ayro Pontes Lima Bomfim (Maceió). AMAZONAS: Aurélia Lopes Castrillon (Manaus). BAHIA: Carlos Brenha Chaves (Salvador). CEARÁ: Eldair dos Santos Sátiro (Fortaleza). ESPÍRITO SANTO: Henrique Tommasi Netto (Vitória). GÓIAS: Maria Aparecida Muniz (Goiânia). GUANABARA: Altair Antunes Zebral (Rio de Janeiro) e Milton de Uzeda (Rio de Janeiro). MARANHÃO: Salomão Fiquene (São Luiz). MINAS GERAIS: Romain Rolland Golgher (Belo Horizonte). PARÁ: Zéa Constante Lins (Belém). PARAÍBA: Maria Marluce Melo Vasconcelos de Castro (João Pessoa). PARANÁ: Alceu Schwab (Curitiba) e Luiz Parelha Ruiz (Londrina). PERNAMBUCO: Diva Montenegro Melo de Azevedo (Recife) e Marcelo Magalhães (Recife). RIO GRANDE DO NORTE: Maria Raquel dos Santos (Natal). RIO GRANDE DO SUL: Sérgio Job Jobim (Porto Alegre), Newton Neves da Silva (Porto Alegre) e Tabajara Gaúcho da Costa (Santa Maria). RIO DE JANEIRO: Cláudio Armando Jürgensen (Niterói). SANTA CATARINA: Aquilles A. Cordova Santos (Florianópolis). SÃO PAULO: Deise Pasetto Falcão (Araraquara), Vicente Corrêa Miranda (Araraquara), Augusto Cezar Montelli (Botucatu), Izabel Yoko Ito (Ribeirão Preto), Antônio Walter Ferreira (São Paulo), Waldyr Giorgi (São Paulo), Gil V. A. Pessoa (São Paulo) e Edécio Maluf (Sorocaba). SERGIPE: Raimundo Mendonça de Araujo (Aracaju).

exatamente
a solução
procurada . . .



KITS PARA BIOQUIMICA WIENER

- excepcional estabilidade dos reativos
aproveitamento integral
- simplicidade operacional
grande economia de tempo
- especificidade
segurança nos resultados
- macro-microtécnicas
vantagem adicional

GARANTIA TOTAL



— SOLICITE FOLHETOS E LISTAS DE PREÇOS —

Revista de Microbiologia

Órgão Oficial da Sociedade Brasileira de Microbiologia

Volume 4 Janeiro-Março 1973 Número 1

Rev. Microbiol. (S. Paulo), 4(1)

CONTEÚDO — CONTENTS

Artigos originais

Dermatofilose proliferativa dos membros em ovinos no Rio Grande do Sul [<i>Proliferative Dermatophilus infection of the legs in sheep of Rio Grande do Sul State, Brazil</i>] — J.O. Lopes, A.T. Londero, M.A.M. Santiago & M.N. Santos	1
Formas L de <i>Staphylococcus aureus</i> isoladas no Rio de Janeiro [<i>L forms of Staphylococcus aureus isolated in Rio de Janeiro</i>] — L.A. Inglez, M.L.P. Costa & Elisa Penido	5

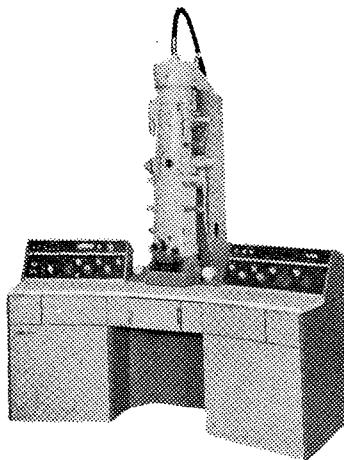
Revisão

The future of microbiology — J.R. Porter	11
--	----

JEOL

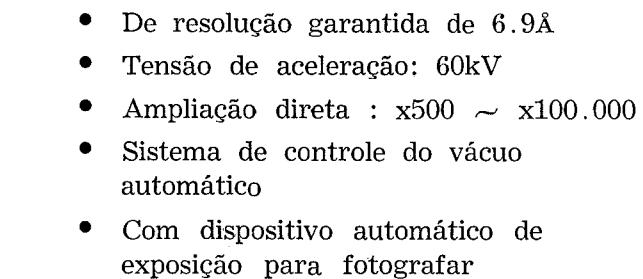
**GARANTE A ASSISTÊNCIA TÉCNICA E A
CAPACIDADE DE TODOS OS
SEUS EQUIPAMENTOS**

Microscópio Eletrônico JEM-100B

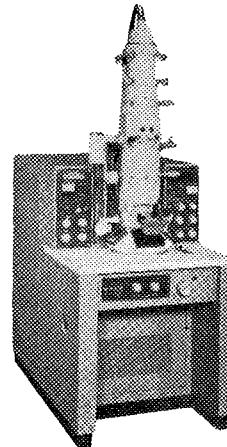


- De resolução garantida de 2Å (máxima do mundo)
- Goniômetro Universal de resolução garantida de 3,4Å
- Tensão de aceleração : 20 — 40 — 60 — 80 — 100kV
- Ampliação direta : x300 ~ x500.000
- Acessório Scanning de resolução garantida de 100Å

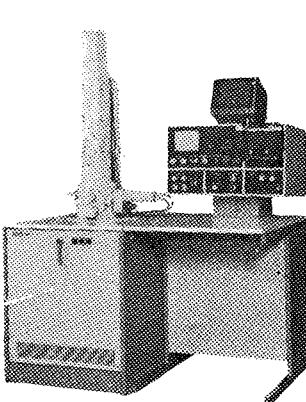
Microscópio Eletrônico JEM-T8



- De resolução garantida de 6.9Å
- Tensão de aceleração: 60kV
- Ampliação direta : x500 ~ x100.000
- Sistema de controle do vácuo automático
- Com dispositivo automático de exposição para fotografar



Microscópio de Varredura JSM-S1

- 
- De resolução garantida de 250Å
 - Ampliação : x19 ~ x100.000
 - Com estrado de Goniômetro
 - Com acessório TV scanning
 - Controle do vácuo automático e máquina fotográfica automática

JEOL LTD., Tokyo, Japan

JEOL DO BRASIL - Assistência Técnica

Rua da Glória, 654 — N.º 16 — São Paulo
Tel.: 279-1032

Instruções aos autores

A Revista de Microbiologia publica trabalhos originais em todos os campos da microbiologia e da protozoologia. Revisões e atualizações serão publicadas a convite do conselho editorial.

Os manuscritos devem ser enviados em duplicata (original e uma cópia) para o Editor da Revista.

NORMAS GERAIS — Todo manuscrito submetido à Revista deve representar pesquisa original inédita e que não será publicada em outro órgão. Os trabalhos podem ser redigidos em português, espanhol ou inglês. Se aceitos pela Revista, não poderão ser reproduzidos, mesmo em partes, sem permissão oficial dos Editores.

A Revista segue, essencialmente, o "Style Manual for Biological Journals" (2ª edição, AIBS, 1964). Os símbolos genéticos devem seguir, essencialmente, as recomendações de Demerec & col. (*Genetics*, 54: 61, 1966). Abreviações bioquímicas devem seguir, essencialmente, as regras da IUPAC-IUB (*J. Biol. Chem.*, 241: 527, 1966). Atividade enzimática deve ser expressa em termos de unidades internacionais (Enzyme Nomenclature, Elsevier Publ. Co., 1965). Para pesos e volumes, devem ser usados os prefixos nano (n) e pico (p), ao invés de milímicro ($m\mu$) e micromico ($\mu\mu$). Comprimentos devem ser expressos em micrômetro (μm ; $10^{-6} m$), ao invés de micro (μ); nanômetro (nm ; $10^{-9} m$), ao invés de milímicro ($m\mu$); e Angstroms (A ; $10^{-10} m$). Partes por milhão (ppm) devem ser expressas como microgramos por mililitros ($\mu g/ml$) ou microlitros por litro ($\mu l/l$). A Revista se reserva o direito de adaptar os manuscritos ao estilo adotado.

NOMENCLATURA DE MICRORGANISMOS — A combinação binomial, nome do gênero seguido do da espécie, é adotada e a nomenclatura apresentada no "Bergery's Manual of Determinative Bacteriology" (7ª ed., 1957) obedecida. Se o Autor divergir dessa nomenclatura, seu julgamento será respeitado, mas a classificação correspondente ao Manual de Bergery deverá ser mencionada a seguir, entre parênteses, à primeira vez em que o nome figurar no texto e no resumo. Quando um nome novo for proposto para um microrganismo, será solicitada a opinião de uma autoridade internacional em taxonomia.

FORMA DO MANUSCRITO — Os trabalhos devem ser datilografados em papel branco, comum, tamanho ofício, em espaço duplo ou triplo, deixando-se o mínimo de 3 cm de margens laterais, superior e inferior. Títulos de capítulos de primeira ordem devem ser centrados, incluídos essencialmente pela ordem: **Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos, Referências Bibliográficas**. Os de subcapítulos devem ser junto à margem esquerda.

A página-título deverá conter apenas e tão somente: (i) o título do artigo, centrado usando-se letras maiúsculas somente quando obrigatórias, (ii) o(s) nome(s) do(s) autor(es) com maiúsculas e minúsculas normalmente usadas e (iii) afiliação como nota de rodapé, indicada por asterisco.

O resumo não deverá ultrapassar 250 palavras. Os trabalhos redigidos em inglês devem ser acompanhados de um título e resumo em português; os redigidos em português e espanhol, de um título e resumo em inglês. O resumo na língua do trabalho e o título com resumo na outra língua devem ser datilografados em página separada do restante do texto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS — No texto, as referências devem ser citadas por número. Os sobrenomes de dois autores devem ser separados por &; quando houver mais de dois autores, a separação é feita por ponto e vírgula e o último por &. Na seção **Referências Bibliográficas**, as citações devem ser por ordem alfabética de autor (ou da mesma combinação de autores) e, para um mesmo autor, em ordem cronológica, numeradas sequencialmente. Os artigos em periódicos devem ser citados na seguinte ordem: nome(s) do(s) autor(es) em maiúsculas, título do trabalho, nome do periódico (abreviado de acordo com o World Medical Periodicals), número do volume, número do fascículo (quando desejado; colocado entre parênteses), número da primeira e da última página do artigo, e ano da publicação.

Exemplo:

WEISER, O.L. & EMERSON, J.S. — Selective screening for quantitative urine cultures.
Amer. J. clin. Path., 45:649-650, 1966.

Quando puder ocorrer confusão com o título do periódico, o local da publicação deverá ser mencionado entre parênteses, após a abreviação. Exemplo: *Publ. Hlth Rep. (Wash.)*.

Citações de livros devem ter a seguinte ordem: autor(es), título, edição, local, editores e data. Exemplo:

MILLER, S.E. — A textbook of clinical pathology. 6th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1960.

Citações de "resumos", "dados não publicados", "comunicações pessoais" ou "no prelo" poderão ser adequadamente mencionadas no texto, mas não serão aceitas como referências bibliográficas.

TABELAS — Devem ser numeradas em árabe e datilografadas em páginas separadas. Os dados devem ser arranjados de maneira que colunas de material idêntico sejam lidas perpendicular e não transversalmente. Cabeçalhos e legendas devem ser suficientemente claros e compreensíveis, sem necessidade de consulta ao texto. São permitidas notas explanativas de rodapé indicadas por asteriscos, mas não descrições pormenorizadas dos experimentos. Materiais e métodos utilizados para a obtenção dos resultados devem ser incluídos na seção correspondente.

ILUSTRAÇÕES — Cada uma das duas vias do manuscrito deverá ser acompanhada de um conjunto completo de ilustrações (preferivelmente como fotografias). Os gráficos e desenhos devem ser concluídos, não requerendo qualquer montagem ou rearranjo. Nenhuma parte do gráfico deverá ser datilografada, devendo ser usado um e o mesmo normógrafo. As fotografias de ilustrações a traço devem ser feitas em papel de alto contraste apropriado. É recomendável submeter gráficos e desenhos no dobro da impressão final da Revista, prevendo-se todos os elementos da figura para as escalas de redução. Fotografias com retícula devem ser feitas em papel brilhante, com contraste adequado para reprodução na escala 1:1, observados os espaços máximos disponíveis na Revista e seus submúltiplos, reservando-se espaço suficiente para a legenda. Sempre que houver escala de aumento ou redução, esta deverá ser superposta ou desenhada diretamente na fotografia ou figura. Ver instruções sobre legendas, notas de rodapé, etc. sob **TABELAS**. Proteja as ilustrações durante o trânsito, com uma folha de papelão.

NOTAS BREVES — Não devem exceder a 500 palavras e o respectivo resumo não mais do que 25. O(s) autor(es) deve(m) consultar um número da Revista para familiarização com a forma e o estilo.

SEPARATAS — Serão fornecidas, gratuitamente, 10 separatas por artigo. Para encomendas maiores, o(s) autor(es) deve(m) entrar em entendimento com o Editor, correndo as despesas por conta dos interessados.

INTERLAB

Rua Dom Duarte Leopoldo, 707 — Telefone: 278-9703
Caixa postal 15 192 — Correio Cambuci
São Paulo SP

Distribuidores autorizados para o Brasil de:

DIFCO LABORATORIES (Estados Unidos)
Pioneira mundial em bacteriologia

aminoácidos; anticorpos fluorescentes; antígenos e antissoros bacterianos; carboidratos; corantes; discos para antibiogramas e para diferenciação de peptonas; endotoxinas; enriquecedores; enzimas; indicadores; hidrolisados; meios de cultura desidratados e preparados para ensaios microbiológicos, métodos padrões, tecidos e vírus; produtos bioquímicos; reativos sorológicos e clínicos.

DIFCO LABORATORIES (Inglaterra)

A mesma qualidade Difco em produtos especializados

- *produtos selecionados para microscopia óptica:* bálsamo do Canadá, Carbowax, corantes (Giemsa, hematoxilina, May-Grunwald, Papanicolau e uma linha completa de corantes em pó e em solução), clarificadores, DPX, fixadores, indicadores, material para montagem e vedação de lâminas, mordentes, óleo para imersão, parafina histológica, Polywax e outros produtos;
- *materiais fixadores e para montagem em microscopia eletrônica;*
- *produtos químicos diversos.*

PROPPER INTERNATIONAL (Estados Unidos)

Precisão e qualidade garantidas

câmaras de Neubauer; lâminas e lamínulas; lancetas; pipetas para contagem de glóbulos brancos e vermelhos; pipetas de Sahli; termômetros químicos; torniquetes; tubos capilares com e sem heparina.

LABTEST (Brasil)

Colorimetria avançada para análises químicas

ácido úrico; amilase; anticoagulantes; bilirrubina; cálcio; colesterol; cloretos; corantes para hematologia e eletroforese; creatinina; dehidrogenase láctica; ferro sérico; fosfatase ácida prostática; fosfatase alcalina; fósforo; glicose; lipídeos totais; proteínas totais e albumina; timol; transaminases; triglicérides; uréia.

IVA — INDÚSTRIA VIDRIERA ARGENTINA (Argentina)

Última qualidade a preços sem concorrência

vidro de borosilicato, trabalhado com esmero: balões, buretas, Erlcmeyers, pipetas, provetas.

ROLCO SRL — Qualidade a preço inigualável

agitadores; butirômetros; centrífugas clínicas e industriais; destiladores de água; microhematocritos.

Sociedade Brasileira de Microbiologia

Sócios Patrocinadores

BIOLAB-MÉRIEUX — Produtos para Laboratórios Ltda.

B. Herzog — Comércio e Indústria S.A.

CELM — Companhia Equipadora de Laboratórios Modernos

Eli Lilly do Brasil Ltda.

Indústrias Farmacêuticas Fontoura Wyeth S.A.

Indústria Química e Farmacêutica Schering S.A.

Pfizer Química Ltda.



Dermatofilose proliferativa dos membros em ovinos no Rio Grande do Sul

J.O. Lopes *, A.T. Londoro **, M.A.M. Santiago ** & M.N. Santos ***

Resumo

Inspeções em ovinos criados em campos planos e úmidos do Município de Itaqui, RS, Brasil, revelaram 985 animais (12,6%) em 7.800 portadores de lesões proliferativas das extremidades dos membros, causadas por *Dermatophilus congolensis*.

Summary

Proliferative Dermatophilus infection of the legs in sheep of Rio Grande do Sul State, Brazil

An outbreak of *Dermatophilus* infection of the legs or "strawberry foot rot" was disclosed in three sheep flocks. The animals were grazed on plain and humid grassland of Itaqui County, Rio Grande do Sul State, Brazil. The disease affected 985 (12,6%) of 7,800 animals, especially the young ones.

Introdução

A dermatofilose é zoonose cosmopolita causada pelo actinomiceto *Dermatophilus congolensis*^{1,3,10}. A doença tem sido assinalada em diversas espécies animais e no homem⁶. No animal, apresenta-se como dermatite exsudativa que evolui com formação de crostas, compostas por células epidérmicas, e pelos ou lã incrustados no exsudato solidificado. Em ovinos, a doença apresenta três formas clínicas: dermatofilose das partes pilosas da pele; dermatofilose das partes cobertas de lã e dermatofilose das extremidades dos membros⁸.

A infecção de ovinos por *D. congolensis*, no Rio Grande do Sul, vem sendo investigada desde 1967 (dados não publicados), mas somente em 1972 foi observada a forma proliferativa das extremidades dos membros, agora relatada.

Material e Métodos

A partir de 1967, duas fazendas de criação mista ovino-bovina, nos municípios de Itaqui e Santa Maria, RS, foram visitadas, no mínimo uma vez por ano, em busca de animais portadores de lesões cutâneas. Quando a dermatofilose era diagnosticada nos animais de uma fazenda, animais das fazendas vizinhas eram também inspecionados.

Crostas removidas das lesões foram transportadas para o laboratório em envelopes de papel. Material raspado da base das crostas foi fixado e corado com Giemsa para exame microscópico direto. Inoculações feitas em placas de Petri com meio de agar glicosado, adicionado de sangue, foram incubados a 37°C, sob anaerobiose, após tratamento pela técnica de Haalstra⁴.

Dois animais foram sacrificados, seus membros

* Seção de Micologia, Depto. de Patologia, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

** Seção de Parasitologia Veterinária, Depto. de Patologia, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

*** Seção de Patologia Veterinária, Depto. de Patologia, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

amputados e preservados em formol a 10% para estudo anátomo-patológico. As preparações microscópicas foram coradas pelos métodos de Gram-Brown-Breen e Hematoxilina-Eosina.

Resultados

Em novembro de 1972, durante uma primavera excepcionalmente chuvosa (Gráfico 1), foram observados ovinos portadores de lesões crostosas das extremidades dos membros. Os animais da raça Corriedale pertenciam a um rebanho criado em campo pleno e úmido, localizado no município de Itaquí. Inspeções em fazendas vizinhas demonstraram a existência de mais dois rebanhos com animais apresentando lesões proliferativas das extremidades dos membros. A observação se prolongou de novembro de 1972 até março de 1973.

Dos 7.800 animais dos rebanhos inspecionados, 985 (12,6%) apresentavam lesões proliferativas das extremidades dos membros, atribuídas a *D. congoensis*. A doença foi observada com maior freqüência em cordeiros com cinco e sete meses de idade, tendo sido rara em animais adultos.

Clinicamente, a doença se inicia como pequena lesão exsudativa, geralmente localizada na face planar do boleto. Na pele subjacente, surgem lesões semelhantes que se confluem, cobrindo-se de crostas estratificadas, elevadas, duras e secas, aglutinando os pelos e a lã em matriz formada pelo exsudato solidificado. As lesões ocupam pequena área ou se estendem por toda a face posterior do boleto (Fig. 1). Quando são removidas as crostas que recobrem as lesões, observa-se ulceração superficial com ponteado hemorrágico. Este aspecto, lembrando a superfície do morango, deu origem à denominação da doença, "strawberry foot rot".

A localização das lesões nas extremidades dos membros ocasiona dificuldade de locomoção e consequente perda de peso dos animais. Normalmente, porém, há cura espontânea das lesões. A infestação secundária, por larvas de dípteros (miíase), foi achado frequente, ocasionando, às vezes, a morte dos animais.

Microscopicamente, em preparações coradas com Giemsa, foi observada grande quantidade de filamentos ramificados, de 1 a 6 μm de diâmetro (Fig. 2). As porções mais delgadas dos filamentos (1 a 1,5 μm) apresentam apenas septação transversal, en-

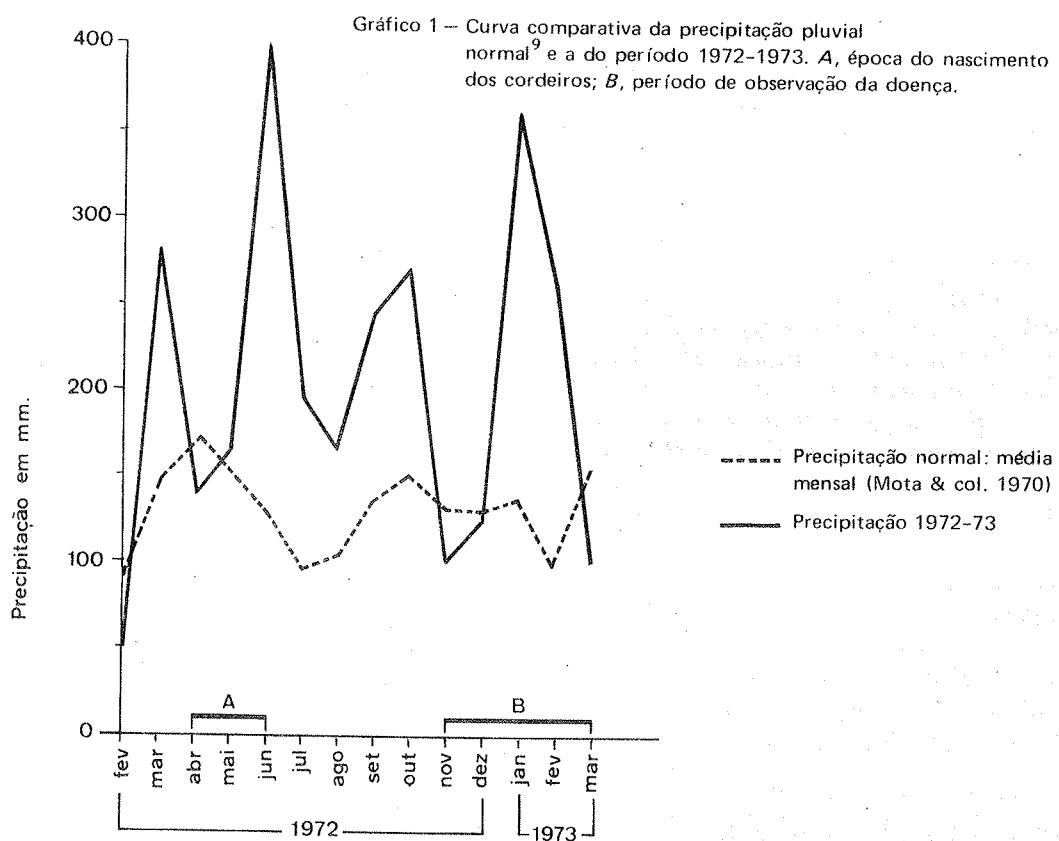
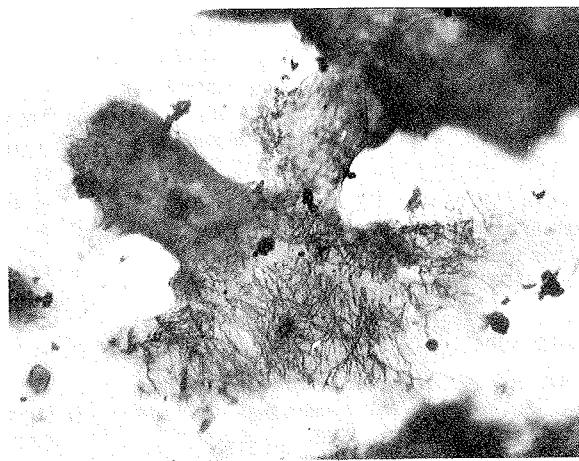




Fig. 1 — Aspecto das lesões proliferativas da dermatofilose das extremidades dos membros de ovinos.

Fig. 2 — Aspecto fotomicrográfico de *D. congolensis* em parasitismo. Coloração com Giemsa, 63x.



quanto as mais espessas (mais de $2\mu\text{m}$) apresentam septação transversal e longitudinal. Resultantes deste tipo de crescimento, foram encontrados ainda grupos de células cocóides, dispostas em tétradas ou grupos de oito, provenientes da desagregação das porções mais espessas das hifas.

As culturas obtidas em agar glicosado, adicionado de sangue, apresentaram o aspecto característico de *D. congolensis* e, microscopicamente, repetiam o aspecto do actinomiceto visto ao exame direto.

Os cortes histológicos da pele mostraram proliferação papilomatosa da epiderme, com intensa formação de queratina, paraceratose e restos necróticos, recobrindo-a. O derma subjacente exibiu intenso infiltrado inflamatório mononuclear, principalmente ao redor dos folículos pilosos, onde se encontram os filamentos ramificados e formas cocóides de *D. congolensis*. O infiltrado inflamatório foi encontrado também ao redor das glândulas sudoríparas e sebáceas, observando-se ainda proliferações fibro-histiocíticas, circundando massas de tecido necrótico e neutrófilos.

Discussão

No Brasil, a dermatofilose ovina foi relatada nos Estados de Minas Gerais e Rio Grande do Sul. Além das diferenças climáticas e ecológicas entre as duas regiões, as criações de ovinos apresentam também características próprias. Assim, enquanto em Minas Gerais são criados ovinos "deslanados", destinados à produção de carne, no Rio Grande do Sul os animais destinam-se primordialmente à produção de lã.

Barbosa & col.² encontraram, em Minas Gerais, 70,1% dos animais de um rebanho infectados por *D. congolensis*. As lesões, de aspecto crostoso, eram mais freqüentes em animais adultos. Lesões generalizadas foram observadas em 21,2% dos casos, tendo havido, inclusive, disseminação para os membros. Nestes casos, entretanto, as lesões não apresentavam o aspecto proliferativo, nem permaneciam restritas às extremidades dos membros.

No Rio Grande do Sul, Londero & col.⁷, inspecionando 60 carneiros Corriedale, criados no município de Itaqui, encontraram 23,3% dos animais infectados por *D. congolensis*. As lesões apresentavam-se como formações crostosas, acompanhadas ou não de queda de lã. Localizavam-se com maior freqüência na região esternal, tendo sido encontradas também na região cefálica, ao redor dos botões cárneos. Lesões generalizadas, das partes cobertas de lã, ocorrem de forma esporádica. Epizootias desta forma clínica da doença, afetando 5% dos cordeiros de dois rebanhos, com 500 e 2.000 animais respectivamente, foram diagnosticadas no município de Itaqui. A dermatofilose das partes pilosas da pele é achado freqüente, tendo sido encontrada em 30 a 80% dos animais inspecionados em ambas as regiões estudadas. As lesões crostosas, pouco evidentes, localizavam-se principalmente nas orelhas⁸.

A forma proliferativa das extremidades dos membros foi observada, pela primeira vez, em 1972. A epizootia ocorreu durante um ano excepcionalmente chuvoso. Os animais afetados pertenciam a rebanhos criados em campos planos e úmidos e que, na época, apresentavam pasto muito desenvolvido. Embora não tenha sido observado nenhum caso da doença

sob esta forma clínica, no município de Santa Maria, é de se supor que outros casos tenham ocorrido em outras regiões do Estado, com campos em condições semelhantes aos do município de Itaqui. Por outro lado, embora parecendo rara a incidência des-

ta forma clínica da dermatofilose em nosso meio, sua ocorrência deve ter passado despercebida, devido principalmente à sua semelhança com outras enfermidades que afetam as extremidades dos membros dos ovinos.

Referências Bibliográficas

1. AUSTWICK, P.K.C. — Cutaneous streptothricosis, mycotic dermatitis and strawberry foot rot and the genus *Dermatophilus* Van Saceghen. *Vet. Rev. Annot.*, 4: 33-48, 1958.
2. BARBOSA, M.; MOREIRA, E.C. & KASSAI, Y. — Dermatofilose em caprinos e ovinos no Município de Felix-lândia, Minas Gerais, Brasil. *Arch. Esc. Vet. Minas Gerais*, 20: 149-153, 1968.
3. GORDON, M. — The genus *Dermatophilus*. *J. Bact.*, 88: 509-522, 1964.
4. HAALSTRA, R.T. — Isolation of *Dermatophilus congolensis* from skin lesions in the diagnosis of streptothricosis. *Vet. Rec.*, 77: 824-825, 1965.
5. HARRIS, S.T. — Proliferative dermatitis of the legs ("strawberry foot rot") in sheep. *J. comp. Path.*, 58: 314-328, 1948.
6. KAPLAN, W. — Dermatophilosis in primates. In Int. Symp. Dermatophilus infection, Ibadan, Nigeria, Agricultural Research Council of Nigeria, Programme and Texts of Papers, pp. 96-101, 1973.
7. LONDERO, A.T.; RAMOS, CECY D. & SANTIAGO, M. — Dermatite micótica (Estreptotricose) em ovinos de Itaqui (Rio Grande do Sul). *Rev. Med. vet. S. Paulo*, 2: 109-112, 1966.
8. LONDERO, A.T. — *Dermatophilus* infection in sub-tropical South America. In Int. Symp. *Dermatophilus* infection, Ibadan, Nigeria, Agricultural Research Council of Nigeria, Programme and Texts of Papers, pp. 62-71, 1973.
9. MOTA, F.S. da; GOEDERT, C.O.; LOPES, N.F.; GARCEZ, J.R.B. & GOMES, A. da S. — Balanço hídrico do Rio Grande do Sul. *Pesq. agropec. bras.*, 5:1-27, 1970.
10. ROBERTS, D.S. — Cutaneous actinomycosis due to the single species *Dermatophilus congolensis*. *Nature (London)*, 206: 1068, 1965.

Formas L de *Staphylococcus aureus* isoladas no Rio de Janeiro

L. A. Inglez*, M. L. P. Costa* & Elisa Penido**

Resumo

Treze estirpes de *Staphylococcus aureus* estudadas apresentaram formas de resistência a nove antibióticos. Os resultados sugerem que a resistência a antibióticos não é relacionada diretamente às características morfológicas e de pigmentação nas diversas culturas de *S. aureus*. Quase todas as culturas evidenciaram formas grandes, gram-negativas, semelhantes a protoplastos, correlacionáveis às formas L.

Summary

L forms of Staphylococcus aureus isolated in Rio de Janeiro

Resistant forms to nine antibiotics were isolated from 13 strains of *Staphylococcus aureus*. The inhibition zones showed a scanty but continuous growth as a background to small colonies which eventually overgrew in these zones. Cells picked out from the background when subcultured in the absence of antibiotics formed colonies with various morphology and pigmentation. Morphological variations were also observed with the original strains isolated from patients submitted to drug therapy.

The small colonies were simultaneously resistant to four or five antibiotics. Cells from the background were more resistant to antibiotics than forms able to revert to normal bacterial morphology. The results indicate that the antibiotic-resistance loci and the loci responsible for morphological characteristics of *S. aureus* are not closely related. Most strains studied showed several gram-negative forms resembling protoplasts and L-forms.

Introdução

A resistência de *Staphylococcus aureus* a vários antibióticos é, há muito, sério problema em infecções hospitalares^{8,11}. A resistência microbiana a múltiplas drogas tornou-se intensamente estudada, após a descoberta dos fatores R, em Enterobacteriaceae¹³. Igualmente, mereceu atenção a resistência das formas L, em diversas espécies bacterianas, frente a quimioterápicos^{4, 5, 9}.

O aparecimento de formas resistentes de *S. aureus* poderia ser explicado pela transferência de episomos com loci de resistência para mais de um antibiótico¹⁰.

O presente trabalho procura esclarecer aspectos de resistência de *S. aureus* a antibióticos, em uma coleção de amostras isoladas em inquérito epidemiológico no Rio de Janeiro.

Material e Métodos

Foram usadas as estirpes *Staphylococcus aureus* de número 33, 2142, 2200, 2203, 2224, 2285, 2292, 2301, 3418, 5450, 5845, 6219, 9320, isoladas da população do Rio de Janeiro, em inquérito epidemiológico***. Foram utilizados os meios comuns, de

rotina bacteriológica (caldo e agar simples), bem como o agar fosfatado, sugerido por Suassuna¹², por nós modificado, com a seguinte composição por litro: peptona (Oxoid) 6g, extrato de levedura (Oxoid) 3g, extrato de carne (BBL) 1,5g, glicose (Carlo Erba) 1g, K₂HPO₄ (Carlo Erba) 0,5g, agar (Oxoid) 13g; pH final ajustado para 7,0, sendo o meio esterilizado a 120°C, durante 15 minutos. Discos de papel de filtro foram impregnados com 0,005 ml de soluções de antibióticos por disco. As concentrações das soluções originais de antibiótico e as concentrações finais por disco estão indicadas a seguir:

Agente Seletivo	Conc. da solução (mg/ml)	Conc. por disco (μ g/disco)
Bayrena (Bay)	250	1.250
Furadantina (Fu)	2	10
Rifampicina (Rif)	2	10
Tetraciclina (Tc)	2	10
Rifamicina B(B)	5	25
Rifamicina SV(Sv)	2	10
Gentamicina (Gen)	2	10
Cloranfenicol (Cm)	2	10
Ampicilina (Am)	2	10

* Bolsista do CNPq, Brasil.

** Universidade Federal do Rio de Janeiro, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, GB, Brasil.

*** Material gentilmente cedido por Dr. I. Suassuna, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual da Guanabara, Rio de Janeiro, GB, Brasil.

As amostras de *S. aureus*, mantidas em agar simples, inclinado, à temperatura ambiente, foram inoculadas em caldo simples e incubadas a 37°C, por 24 horas. Destas culturas, alíquotas de 0,2 ml foram plaqueadas em meio de agar fosfatado, com espalhamento uniformemente feito com alça de vidro. A seguir, os discos de antibióticos foram colocados a distância conveniente e as placas incubadas a 37°C, por 24, 48 e 72 horas. Os halos de inibição foram observados com o auxílio de um estereoscópio. As colônias resistentes e/ou do "background" foram então repicadas para caldo simples.

Resultados

Escolha de meios e cepas — Para a escolha das cepas que demonstrassem maior número de colônias resistentes nos halos de inibição, foram feitos antibiogramas das 13 estirpes em agar fosfatado (Tabela 1).

Para o trabalho, foram selecionadas as estirpes que apresentaram não só o maior número de colônias resistentes, nos halos de inibição, mas as que formavam halos duplos. Portanto, as estirpes 2285 e 3418 foram estudadas em maior detalhe, no que respeita à morfologia colonial e resposta aos agentes seletivos empregados.

Tabela 1

Antibiograma de 13 estirpes de *S. aureus*
em meio de agar fosfatado

Cepas	Antibióticos								Nº halos c/ col. resist.
	Bay	Fu	Tc	Rif	B	Sv	Gen	Cm	
33	R	R	pS	S ²⁰	S	S ¹⁰	pS ²⁰	R	S
2142	R	R	pS	S	pS	pS	S	pS	0
2200	R	R	pS	S ¹⁰	S ¹⁰	S ²⁰	S ¹⁰	R	S
2203	R	R	2hS	2hS ¹⁰	S	S	pS	R	1
2224	R	R	R	S ⁴	2hS	2hS ⁶	pS	R	S ²⁰
2285	R	R	2hpS ²	S ⁵	2hS ¹⁰	2hS ¹⁰	pS	R	S ⁵⁰
2292	R	R	R	S ³⁰	pS ²⁰	S ³⁰	pS ⁶	R	4
2301	R	R	R	S ¹⁰	2hS	S ⁴	pS	R	R
3418	R	R	2hS ¹	S ⁶	2hS ³	S ²	pS	R	2
5450	R	R	pS	S ¹⁵	S ⁷	S ¹⁵	pS	R	S ¹⁰
5845	R	R	pS	S ³⁰	2hS	2hS ¹⁰	pS	R	S
6219	R	R	2hS ³⁰	2hpS	S ³⁰	pS ³	R	R	3
9320	pS ³⁰	R	2hS	S	S ³	pS	R	S	2

Antibióticos: Bayrena (Bay); Furadantina (Fu); Tetraciclina (Tc); Rifampicina (Rif); Rifamicina B (B); Rifamicina Sv (Sv); Gentamicina (Gen); Cloranfenicol (Cm); Ampicilina (Am).

Símbolos:

R: totalmente resistente; R⁻: discreto halo de inibição; pS: pouco sensível (halo entre 2mm e 1cm); S: sensível (halo maior que 1cm); 2h: presença de halo duplo. O expoente indica o número aproximado de colônias resistentes no halo de inibição.

Comparando-se os resultados de antibiogramas em agar simples e agar fosfatado, verificou-se, no primeiro, crescimento escasso e menor número de colônias resistentes no interior dos halos de inibição, tanto nos simples como nos duplos. No agar fosfatado, os resultados foram melhores, verificando-se

crescimento abundante, grande número de colônias resistentes e nítidos halos duplos.

Estudo dos halos de inibição — Com o prolongamento do período de incubação, de 24 para 72 horas, observou-se: aparecimento mais freqüente de halos de inibição duplicados; diminuição dos raios dos halos de inibição, nas cepas sensíveis e de fraca resistência; e aumento do número de colônias resistentes no interior dos halos de inibição (Fig. 1).

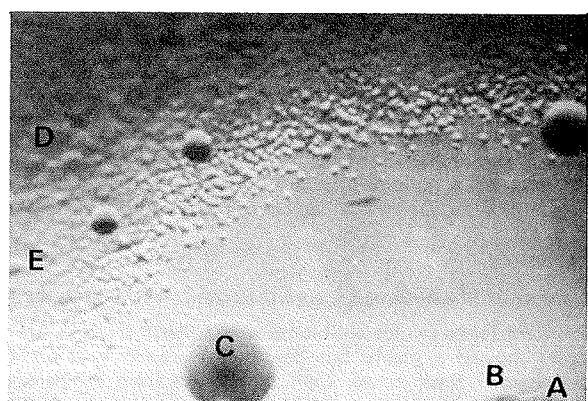


Fig. 1 — Crescimento de *S. aureus* em meio com antibióticos. Halo de inibição, apresentando: A, disco com antibiótico; B, "background"; C, colônia revertida; D, primeiro halo de inibição; E, segundo halo de inibição. 8X.

Tipos de crescimento — A seguinte variedade de tipos de crescimento foi observada: crescimento em película translúcida, sobre o agar, frequentemente até o disco impregnado com antibiótico, salpicada de colônias de diversos tamanhos (desde menos de 0,5 mm até vários milímetros de diâmetro); este tipo de película translúcida, porém com colônias indiferenciáveis a olho nu, que foi por nós designado "background" (Fig. 2); crescimento maciço, com regiões de pigmentação alaranjada, que surgiam independentemente do agente seletivo.

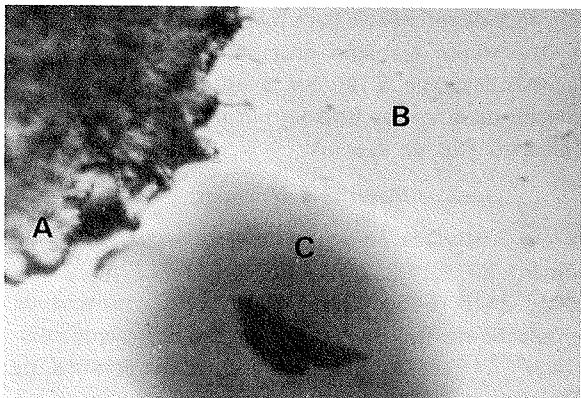


Fig. 2 — Diferentes aspectos do "background"; A, disco com antibiótico; B, "background"; C, microcolônia revertida. 37X.

Tipos de morfologia colonial — As colônias isoladas em presença de antibióticos foram purificadas em meio sem agente seletivo, três vezes. Os seguintes tipos de morfologia colonial foram observados: colônias *normal*, com pigmentação amarelada uniforme e bordos lisos; colônias tipo *ovo-frito*, com a parte central mais escura e espessa do que os bordos; colônias tipo *ondulada*, com o ápice ondulado; colônias tipo *setorada*, com dois tipos de pigmentação bem distintos; colônias com tipos morfológicos mistos, como, por exemplo, *setorada-ondulada*. Todos os tipos morfológicos apareciam independentemente do agente seletivo, de sua presença ou ausência. Verificou-se, igualmente, que os diversos tipos morfológicos, uma vez purificados por passagem repetida em meio sem agente seletivo, podiam dar origem a outros tipos. Somente após mais de seis repiques repetidos ocorria eventual estabilização. A cepa 2285, por exemplo, formava, consistentemente, colônias do tipo *setorada-ondulada* e *setorada-bordos lisos*, ao passo que a cepa 3418 somente formava colônias do tipo *setorada-bordos lisos* (Fig. 3). As estirpes originais, de número 2285 e 3418, que, no laboratório, nunca estiveram em contacto com antibióticos ou qualquer agente seletivo, apresentavam, também, as mesmas variações morfológicas.

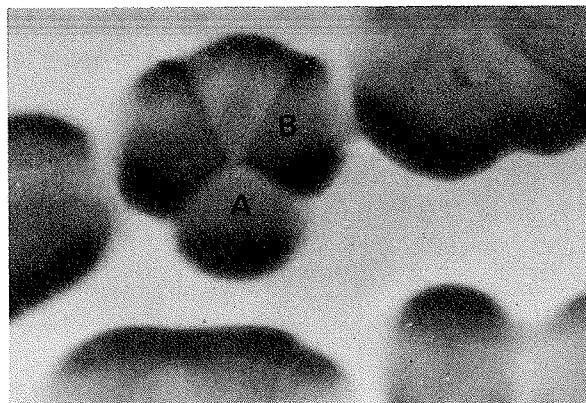


Fig. 3 — Identificação de colônia setorada-bordos lisos. A, região mais clara e B, região mais escura. 18X.

Antibiogramas dos diversos tipos de crescimento e morfologia colonial — Antibiogramas foram feitos com culturas provenientes de colônias de diversos tipos morfológicos. Nestas experiências, não foram incluídos os antibióticos Bay, Cm, Fu e Gen, pois, nas condições empregadas, as estirpes originais e as linhagens recém-isoladas apresentavam-se resistentes ou pouco sensíveis a eles. Os resultados obtidos nos antibiogramas independem do halo de inibição do qual procediam as amostras, isto é, independem do agente seletivo inicial. Nem a pigmentação, nem o tipo de crescimento (normal, "background", etc.) têm influência no padrão de resistência a antibióticos.

Em relação às estirpes originais, houve ligeiro aumento da resistência, mas não a alteração qualitativa no padrão de resistência aos diversos antibióticos. Este aumento de resistência se evidenciou pela formação de halos duplos, mais nítidos, e "background" mais espesso. Antibiogramas do "background", formado por culturas isoladas originalmente de colônias normais, alaranjadas e do "background" mostraram que a pigmentação não influiu na resistência e que o "background" apresenta maior resistência. Os resultados apresentados na Tabela 2 referem-se ao estudo comparativo das regiões claras e escuras das colônias setoradas (estirpe 3418) e setorada-ondulada (estirpe 2285). Foram comparados os resultados de culturas de estirpes originais (controle), com os de linhagens isoladas após dois antibiogramas. Na estirpe 3418, culturas provenientes de antibiogramas anteriores, após dois novos antibiogramas, apresentavam maior resistência aos cinco antibióticos, apesar de terem sido selecionadas como resistentes a apenas um ou dois antibióticos. Na estirpe 2285, culturas provenientes de antibiogramas anteriores, após dois novos antibiogramas, não mostraram diferenças em relação à estirpe original.

Presença de formas L³ — Paralelamente à maioria dos antibiogramas, isolamentos e purificações, foram feitos esfregaços e coloração de Gram. Em quase todas preparações, foram observadas formas redondas, grandes, gram-negativas, semelhantes a protoplastos, correlacionáveis às formas L, descritas na literatura^{1, 2, 14}. Estas se apresentaram isoladas, sendo, no entanto, mais frequente seu agrupamento em filamentos ou círculos, surgindo, também, estruturas maiores e complexas, os chamados "large bodies" (Fig. 4).

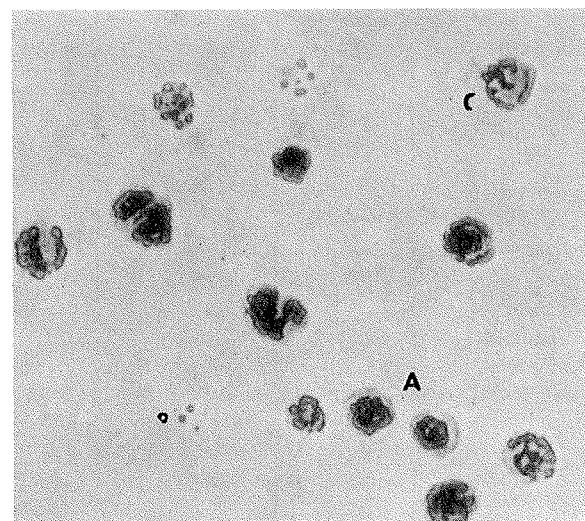


Fig. 4 — Prováveis formas-L gram-negativas de *S. aureus*, com: A, estruturas maiores e complexas chamadas "large bodies"; B, formas-L isoladas e C, formas-L em círculo. 1120X.

As estirpes com formas L estudadas apresentaram as seguintes características, concordantes com as observadas por outros autores^{6,7}: formação de "background"; instabilidade na morfologia colonial; reversão às formas coloniais normais, a partir de colônias com morfologia e pigmentação diversas (tipos ondulado, setorada, pigmentação alaranjada); homogeneidade no padrão de resistência a antibióticos; presença de formas grandes ("large bodies"); e gram-negativas.

Discussão

As estirpes de *Staphylococcus aureus*, isoladas em inquérito epidemiológico no Rio de Janeiro, apresentaram numerosas colônias resistentes, nos halos de inibição de vários antibióticos.

Escolheu-se, para estudo, as cepas que apresentavam maior número de colônias resistentes nos halos de inibição, conforme indicado na Tabela 1. Em muitos destes halos, notou-se escasso crescimento em torno do disco, por nós chamado de "background". Sobre este "background", destacavam-se colônias resistentes, de diversos tamanhos, algumas muito pequenas (menores de 0,5 mm de diâmetro). Estas microcolônias podiam reverter ao tamanho normal, sem, contudo, modificarem seu padrão de resistência ao antibiótico em torno do qual eram

encontradas.

A reversão à forma colonial grande e a presença de halos de inibição duplos, que apareceram em leituras com mais de 24 horas de incubação, poderiam ser explicadas como um crescimento mais lento das células existentes no "background". Este fato poderia explicar o aparente aumento de resistência com o prolongamento do tempo de incubação. O "background", quando testado por repetidos antibiogramas, mostrou-se mais resistente que as colônias revertentes, dele derivadas. Tal resistência não era, contudo, total.

Microcolônias purificadas em meio sem agente seletivo, segregavam diversos tipos morfológicos, independentemente do agente de seleção inicial. Além disso, os mesmos tipos de morfologia foram identificados em culturas das cepas originais, as quais, em laboratório, jamais estiveram em contato com qualquer antibiótico.

Tais dados sugerem que os marcos para resistência são afastados dos marcos para pigmentação e morfologia colonial. Tal hipótese foi confirmada com os resultados obtidos no presente estudo, alguns dos quais estão representados na Tabela 2. As estirpes com coloração alaranjada, as originárias do "background" e as provenientes de colônias setoradas mostraram o mesmo padrão de resistência aos cinco antibióticos.

Em todas as culturas derivadas de colônias morfo-

Tabela 2
Antibiograma de culturas a partir de colônias com morfologia alterada

Tipo de colônia	Pigmentação	Antibióticos				
		Tc	Rif	B	Sv	Am
E. 3418 setorada (controle)	clara escura	pS → R ⁻ 2hpS → R ⁻	2hS → 2hpS 2hS → 2hpS	2hS → 2hpS 2hpS → 2hpS	2hS → 2hpS 2hpS → 2hpS	S → 2hpS 2hS → 2hpS
		pS → R ⁻ pS → R ⁻	R R	R R	R R	2hpS 2hpS
E. 2285 ondulada-setorada (controle)	clara escura	2hpS → R ⁻ pS → R ⁻	2hS → 2hS 2hS → 2hS	2hS → 2hpS 2hpS → 2hpS	2hS → 2hpS 2hS → 2hpS	S → 2hS pS → 2hpS
		pS → R ⁻ pS → R ⁻	2hS → 2hS 2hS → 2hpS	2hS → 2hS 2hS → 2hpS	2hS → 2hS 2hpS → 2hpS	2hS → 2hS S → 2hS

As setas indicam a alteração decorrente da incubação prolongada; em todos os casos de sensibilidade, houve crescimento de "background". Os símbolos são os mesmos da Tabela 1.

logicamente distintas, observou-se, em coloração de Gram, a presença de corpos grandes, gram-negativos, semelhantes a protoplastos. Tais achados concordam com os de outros autores^{1, 2, 14}, que descreveram formas L em *Staphylococcus aureus*, levando-nos a crer que as estirpes estudadas apresentam formas L em estágio instável⁵, havendo grande reversão destas às formas cocos.

Agradecimentos

Os trabalhos realizados no Laboratório de Genética Microbiana, Instituto de Biologia, da UFRJ, contam com a ajuda financeira do Conselho Nacional de Pesquisa, do Conselho de Pesquisa da UFJR e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Referências Bibliográficas

1. DANNIS, D.C. & MARSTON, J.M. — Fine structure of staphylococcal L-forms. *Tex. Rep. Biol. Med.*, 23:729-736, 1965.
2. DAVIS, B.D.; DULBECCO, R.; EISEN, H.N.; GINSBERG, H.S. & WOOD, Jr., W.B. — Microbiology. Harper & Row Publ. Inc., 1967.
3. DIENES, L. & WEINBERGER, H.J. — The L-forms of bacteria. *Bact. Rev.*, 15:245-288, 1951.
4. FODOR, M. & MILTÉNYI, L. — Studies on L-forms of *Staphylococcus aureus* strains of different antibiotic and phage sensitivity. *Acta microbiol. Acad. Sci. hung.*, 11: 155, 1964/65.
5. KAGAN, B.M.; ZOLLA, S.; BUSSER, R. & LIEPNIEKS, S. — Sensitivity of coccal and L-forms of *Staphylococcus aureus* to five antibiotics. *J. Bact.*, 88:630-632, 1964.
6. KING, J.R. & GOODER, H. — Reversion to streptococcal state of enterococcal protoplast, spheroplasts and L-forms. *J. Bact.*, 103:629-686, 1970.
7. KING, J.R. & GOODER, H. — Induction of enterococcal L-forms by action of lysozyme. *J. Bact.*, 103:686-691, 1970.
8. KNIGHT, V.; WHITE, A.; FOSTER, F. & WENZEL, T. — Studies on staphylococci from hospital patients: II. Effects of antimicrobial therapy and hospitalization on carrier rates. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 65:169-174, 1956.
9. MOLANDER, C.W.; KAGAN, B.M.; WEINBERGER, H.J.; HEIMRICH, E.M. & BUSSER, R.J. — Induction by antibiotics and comparative sensitivity of L-phase variants of *Staphylococcus aureus*. *J. Bact.*, 88:591-594, 1964.
10. NOVICK, R.P. & ROTH, C. — Plasmid-linked resistance to inorganic salts in *Staphylococcus aureus*. *J. Bact.*, 95:1335-1342, 1968.
11. STENDERUP, A. & BACH, A. — A staphylococcal epidemic in a maternity hospital. *Acta path. microbiol. scand.*, 48:140-168, 1959.
12. SUASSUNA, I.R.; HUBINGER von, M.G. & SUASSUNA, I. — Atividade antibacteriana da rifamicina SV em face a outros antibióticos. *Hospital*, 63:1093-1103, 1963.
13. WATANABE, T. & FUKASAWA, T. — Episome mediated transfer of drug resistance in Enterobacteriaceae. *J. Bact.*, 81:679 and 699, 1961.
14. WEINBERGER, H.J.; KAGAN, B.M. & MOLANDER, C.W. — Induction and cultivation of staphylococcal L-forms in the presence of methacillin. *J. Bact.*, 83: 1162-1163, 1962.



The future of microbiology

J. R. Porter*

Summary

The relevance of microbiology was considered and the new trends in research and application of this branch of science discussed in relation to scientific and technological development.

Resumo

O futuro da microbiologia

A importância da microbiologia e as tendências para a aplicação deste ramo da ciência foram discutidos, em relação ao desenvolvimento científico e tecnológico.

"The future is a world limited by ourselves . . ."

— Maurice Maeterlinck

In considering the future of a science as important and dynamic as microbiology one must appreciate the above quotation and recognize the limitations of human beings. But in addition one must realize the element of chance that enters into scientific discoveries and their applications, as well as the political and socioeconomic factors that control our destiny.

With these points in mind, I predict that microbiology has just begun to make great contributions to the health and welfare of mankind. In making this prediction I wish to mention a few recent examples in various areas of microbiology, and to stress (i) the great need for more fundamental research in microbiology, (ii) the importance of a better understanding of microbial systematics, and (iii) the great significance of developing and preserving culture collections of microorganisms and cell lines.

General Microbiology

Some of the fundamental areas of microbiology that will undoubtedly develop rapidly in the future and provide much new and significant knowledge must first be considered. In citing examples I by no means wish to imply that these are the only areas that

will provide great discoveries, nor are the illustrations unusual and extensive.

Structure and Function. Undoubtedly every structure and component in individual microorganisms play some function in the activities of the cell. And the more we learn about these components and their function the more we will know about the wonders of nature and how it can be manipulated for the good of mankind.

Perhaps the simplest form of cell differentiation is spore formation and germination in bacteria. Thus it is conceivable that if we knew more about the mechanisms involved in these processes we could interpret some of the more complicated phenomena that go on in higher forms of life.

Much can be learned about cell membranes and permeability by studying the composition and properties of microbial cell walls. D-alanine, is a ubiquitous component of the bacterial cell wall; it is synthesized endogenously by bacteria, but unlike L-alanine it has no essential function in human metabolism. With this in mind a new highly active antibacterial agent with novel properties has been made from the cell component, D-alanine³³. Using the carbon-fluorination technique 3-fluoro-D-alanine was prepared. When this compound was added to bacteriological culture media commonly employed in testing for antibiotic susceptibility, pathogenic bac-

* Dept. of Microbiology, University of Iowa, Iowa City, Iowa 52242, USA.

teria were not inhibited. When the substance was added to a chemically-defined medium, however, various organisms were inhibited. Neutralization of antibiotic action by ingredients in complex media has been observed before, so this finding was not unusual. But when the 3-fluoro-D-alanine was administered to mice infected with salmonellae, streptococci, pneumococci, or staphylococci, the bacteria were strongly inhibited. When these results are extended and better understood in the future they may have far reaching significance.

In the past the relationship between the human pathogen *Treponema pallidum* and *T. cuniculi*, which causes spirochetosis in rabbits, has been unclear. Recent electron microscope studies²⁴ of the cell wall, cytoplasmic membranes, mesosomes, and other structures of these two species indicate that they are indistinguishable morphologically. Further research is necessary to determine other characteristics of the two species, and to evaluate if the types of skin lesions in human syphilis are similar to those in animal tissues. Similar studies with other infectious agents may reveal important information about host specificity.

Microbial Genetics and Molecular Biology. Much of our recent knowledge in the fields of genetics and molecular biology has come from studying microbial systems, and there is little doubt that research using microorganisms will continue to provide important and valuable data. Such information will be of great value in selecting better strains of organisms for commercial fermentation processes, for the production of improved bacterial and viral vaccines, for tracing epidemics and selecting antibiotics for the treatment of diseases, and for determining the molecular structure and activities of living cells. An understanding of the actual formation and activity of biological molecules may be forthcoming in the near future. Spiegelman and colleagues³⁹ have just determined the nucleic acid sequence of a single strand of RNA bacteriophage, and the sequence of its complementary strand formed during replication. The important and unique part of this research is that the biologically active RNA bacteriophage can be produced in a test tube. This has interesting implications for extracellular Darwinian experiments, and for the first time answers may be possible for the question: "Precisely what base changes have occurred in mutating one phenotype to another?" According to Spiegelman such information will undoubtedly lead to insights into the evolutionary pathways available to replicating nucleic acids.

Microbial Metabolism. As in the past, research on mechanisms of metabolic pathways and the use of metabolic products may be of great value. Two recent

examples may be cited:

Streptomyces olivaceus produces large amounts (yields up to 25%) of guanosine 5' phosphate-glucose as a product of metabolism²⁷. This and related sugar nucleosides have been found in molds (*Eremothecium ashbyii*), the lactating bovine mammary gland, pig milk, and brown algae. Indications are that the compounds serve as glycosyl donors in the synthesis of complex carbohydrates by plants, animals, and microorganisms.

A unique microbial product produced in culture filtrates from dibenzothiophene by *Pseudomonas abikensis* or *P. fiani* has recently been identified³² as a new substance: *trans*-4[2-(3-hydroxy)-thianaphthenyl]-2-oxy-3-butenoic acid. This substance was found to inhibit strongly the growth of *Xanthomonas citri*, which causes cankers in citrus fruits, and *Piricularia orizae*, which induces blast in rice plants.

Microbial Enzymology. Many microbial enzymes are now produced commercially and these will be mentioned later under the section on industrial microbiology. Also the importance of detecting the presence or absence of certain enzymes in various pathogenic microorganisms will be discussed under clinical microbiology. Thus, here I wish to indicate only that the practical aspects of microbial enzymology will gain in significance in the future. Two important aspects of this field deserve attention here, however, because they are still in the basic stages of research:

1) The discovery that biologically active compounds, such as microbial enzymes, can be fixed artificially to insoluble polymers (membranes or particles) as supports or carriers, has generated great interest among scientists and technologists⁴. Certain enzymes that are inactivated rapidly by heat can be materially stabilized by attachment to an inert polymeric support and then used to study complex biological reactions at relatively high temperatures. In other cases these so-called insolubilized enzymes can be used in non-aqueous environments. Thus the possibilities seem limitless for the use of certain microbial enzymes in future research.

2) The study of enzyme inhibitors from microorganisms (fungi, bacteria, and actinomycetes) is an exciting and promising field for the future. Umezawa⁵⁹ and colleagues in Japan are pioneering in this field. Preliminary results show that such inhibitors may be employed to alter, or to control, various biological activities. Some inhibitors are known to influence the germination of seeds and certain plant enzymes. The action of fusaric acid ($C_{10}H_{13}NO_2Ca$) from *Fusarium oxysporum* may possibly inhibit the enzyme dopamine- β -hydroxylase which is thought to be associated with alcoholism. Pepstatin ($C_{34}H_{63}N_5O_9$), produced by *Streptomyces* species, is being employed experimentally in animals to test the role of pepsin in

stomach and duodenal ulcers. Other microbial inhibitors may be shown to have a relationship to enzymes in cancer cells, or in various metabolic and genetic disorders in human beings.

Pathogenesis and Immunology. The areas of pathogenesis and immunology in microbiology have developed so rapidly in the past few years that they have essentially become separate disciplines. Studies have ranged from pathogenesis of *Shigella dysenteriae*³⁶ to the occurrence of measles antigen precipitating antibodies in sera from patients with multiple sclerosis⁴¹; from the isolation, purification, and structure of a so-called "slow-virus agent" such as the one causing Aleutian disease of mink¹¹ to new O and K antigens of *Escherichia coli*⁴²; from T-mycoplasmas as the possible cause for reproductive failure^{22,29} to the morphology of Australia antigen positive particles⁵⁷; from the antigenic structure of tetanus toxin⁴⁰ to the demonstration that the envelope glycoprotein of rabies virus is the antigen responsible for the induction of virus-neutralizing antibody formation and protection⁵⁵; and from the successful vaccination of rabbits with *Treponema pallidum* attenuated by γ -irradiation³⁸ to studies on interferon³.

Another unique finding that deserves further consideration is that of Fajardo. He just reported (*Nature* 243:298-299, June 1) that the malarial parasite (*Plasmodium berghei*) appears in the platelets of infected mice. This is the first time any protozoan has been seen in platelets, and the finding is too new to speculate on its future significance in malaria. But it may constitute a breakthrough in understanding parasitic diseases.

With more research in pathogenicity, cellular and tumor immunology, immunogenetics, and transplantation, the future in these fields has great promise.

Nomenclature and Classification. The naming and classifying of microorganisms has presented problems for microbiologists since the early days of the science, and future work in systematics is imperative. With computers available, numerical classification and automation will become more significant.

The committee chaired by Lapage³⁴ to propose revisions to the International Code of Nomenclature of Bacteria has made some excellent suggestions for preserving the names for bacterial taxa that have any claim to be worth keeping beyond 1980. Microbiologists need to study and keep abreast of these proposals.

The eighth edition of *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* should be published the first part of 1974. This important *Manual* will differ greatly from previous editions in format, in the presentation of information, and in the approach to classification; it represents the work of numerous

committees, and 129 authors from 15 countries. A Kingdom PROCYOTAE Murray is being accepted but not a complete hierarchy. The organisms are placed in 19 Parts with vernacular headings. Microbiologists will welcome this new edition, which has been in preparation over 5 years.

Soil Microbiology

Until the work of Hellriegel and Wilfarth, Beijerinck, Winogradsky, and others almost 100 years ago, no one realized the great significance of microbial life in the soil. Now we know, however, that the upper few centimeters of a hectare of fertile soil may contain several kilos of bacteria, actinomycetes, fungi, protozoa, and algae. And that these microbes have great influence on the texture of the soil and its fertility, as well as all plant and animal life on earth. Without the microbial activities in the soil other life on the earth would soon perish. This information is well known to those of us currently working in microbiology. But what does the future hold?

Soil microbiologists and chemists hopefully will learn more about the interrelationships that exist during the biogeochemical cycling of not only C, N, P, and S, but other elements in the soil. Expanded knowledge about the cycles of elements is becoming essential in devising a rational approach for the management of natural resources, and in understanding the impact of pollution.

If demands for fertilizer increase in the world, and if the energy crisis becomes more acute, greater attention must be given to microbial N₂-fixation, and the preservation of phosphates and other essential elements. Emphasis needs to be given immediately to research on the nutrition, genetics, and enzymes of both symbiotic and nonsymbiotic N₂-fixing microorganisms. A recent report⁴⁴, indicates that indole-acetic acid plays a role in the infection of legume root hairs by rhizobia, and that gibberellic acid (up to 8 ppm) stimulates growth of these bacteria. Population dynamics and physiological properties of the genera *Azotobacter* and *Beijerinckia* have been shown³⁷ to vary greatly under different environmental conditions. Such studies should be expanded.

Better understanding of the biological mechanism of N₂-fixation will eventually aid in increasing the world's supply of protein, especially if by genetic means or other ways the process can be induced in plants other than legumes. Progress along this line has been reported from Nottingham University where scientists have demonstrated that N₂-fixing bacteria can infect the tobacco plant¹⁶. What a great feat it would be if this could be accomplished for rice and other cereal crops.

Future studies on the microbes in the rhizosphere will yield valuable scientific and practical information. We know the viable microbial population is higher and physiologically more active in the rhizosphere than in root-free soil, but the significance of such activities are not well-understood. Recently, *Arthrobacter* species isolated from the rhizospheres of plants were found² to deactivate certain phenylmercury and lindane seed dressings. Also, *Bdellovibrio bacteriovorus*, which is parasitic for other gram-negative bacteria, has been isolated from the rhizosphere of the soybean. When sprayed on normal plants this organism inhibited the development of blight in soybeans caused by *Pseudomonas glycinea*⁴⁹. If this technique could be extended to control some other bacterial diseases of plants it would be of great value to agricultural production.

Continuation of certain phases of the International Biological Program are essential, especially studies on nitrogen fixation and research dealing with the microbial activities in tundra. The results will not only explain various biological phenomena but will have practical significance.

Geomicrobiology

One of the more rapidly developing areas of science is geomicrobiology, which deals with all geochemical phenomena occurring all over the earth wherever rocks and chemical elements come in contact with microbes. Although some persons prefer to consider this field under such subdisciplines as soil, water, or marine microbiology, this specialized division seems warranted to cover such topics as the (i) leaching of metals from ores, (ii) prospecting for oil and gas, and (iii) marine mining.

Leaching of Metals. The oxidation and reduction of iron, copper, sulfur, manganese, and other inorganic substances by microorganisms have been known for many years, but our knowledge of the processes is most incomplete and controversial. A recent study⁶¹ indicates that the stalked iron-bacterium, *Gallionella ferruginea*, may be closely related to a manganese-oxidizing bacterium *Metallogenium* sp. This interesting suggestion deserves further study, since the latter organism has many unique characteristics, such as lacking a conventional cell wall.

The great practical potential for certain organisms is in the recovery by leaching of copper, uranium, and other metal salts from low grade ores and slag from mines. Also some species may show a selective action, such as the fractionation of selenium isotopes (Se^{76} and Se^{82}), that will be of value.

Prospecting for Oil and Gas. Geological and seismic

methods are available for oil and gas explorations. But because the hydrocarbon content of soils overlying gas and oil fields is higher than surrounding areas, microbiological techniques can also be used to determine the numbers of hydrocarbon oxidizers present. Indirectly this may indicate oil and gas deposits below.

Marine Mining. One of the greatest untapped mineral resources of the earth may be the so-called seabed nodules, which are rich (8 to 50%) in iron, manganese, copper, cobalt, and nickel. In fact, Hawkes states (*Nature*, 242:151, 16 March 1973) that these "nodules may be accumulating some metals faster than man currently uses them." From a microbiological standpoint it is interesting that certain investigators¹⁸ believe that bacteria are primarily responsible for these nodules, since significant numbers of manganese oxidizing-reducing organisms are found on freshly collected specimens. Several commercial companies have already considered mining these nodules, since indications are that ocean dredging may yield 50 million tons annually, with a value of \$20 per ton. The forthcoming international conference on the Law of the Sea may consider the mining rights of the oceans and issue mining permits. But from a scientific standpoint further research is necessary to explain the origin of these distinctive nodules.

Aerobiology

The microbial flora of air is variable, transient, and depends on many physico-chemical factors. We have learned much about the occurrence, survival, and transmission of microorganisms in the atmosphere since the classical studies by Pasteur, Tyndall, and others about 100 years ago. But we still have little knowledge about whether microorganisms have any normal function in air.

Recently much attention has been given to air pollution, especially in congested industrial areas, and to the transmission of microorganisms and other particulate matter in the air of hospitals and commercial establishments.

Air pollution is so bad in certain places that it is interfering with both plant and human life. Some 40 foreign substances are found in the air of various cities. Scientists state that 80% of these pollutants and their effects are unknown, but we do know they consist mainly of carbon monoxide, sulfur oxides, nitrogen oxides, hydrocarbons, and particulate matter. Such substances appear to be responsible for much of the chronic respiratory illness in human beings. Significantly, only microorganisms in the air, soil, or water are capable of converting these potentially toxic pollutants to harmless substances under normal con-

ditions. But microorganisms cannot be utilized for such a massive task of cleaning the air at the present time.

Some progress is being made in the control of particulate matter, microorganisms, and other pollutants in cities⁵³, in the air of hospitals, food, and other commercial establishments⁶², and even in agricultural production¹. From a microbiological standpoint, research must develop more sensitive techniques for the analysis of air, and better methods for the uses of filtration, radiation, chemical disinfection, or incineration of the air. In the more heavily contaminated areas it will be necessary to establish certain standards to assess the purity of air. Also a surveillance system may have to be organized.

Water and Sewage Microbiology

Recent rapid urban and industrial developments, as well as new modes of personal hygiene and living, have imposed increased demands on available water supplies in many areas throughout the world. In the United States, the demand for water increased from 45 to 54 (20%) billion gallons per day from 1965 to 1970. Such changes have in turn greatly influenced the disposal of both liquid and solid agricultural, industrial, and domestic wastes.

The microbial flora of the water and sediments of rivers, lakes, and the oceans are of great significance in maintaining good water supplies, for whatever purposes they may be used, and in the disposal or recycling of wastes.

In an effort to reduce water evaporation in reservoirs and other storage basins, various physical and chemical methods are being employed. Recent studies⁵¹ show that the addition of chemical suppressors, such as hexadecanol, have many ecological ramifications including alterations in the microbial flora. In the future, microbiologists will be involved more and more in such studies.

With our present knowledge of sanitation, water-borne diseases should be completely eliminated from municipal water supplies. But this has not been possible, and continued microbial surveillance of drinking water is essential. Future problems will involve improving techniques for the detection of enteric bacteria and especially viruses. The recent isolation of poliovirus from well water by Vander Velde & Mack⁶⁰ shows that we must have better indicators of water pollution. Studies in this area are now underway^{13,18} and we can look forward to establishing more effective standards.

The proper disposal of agricultural, industrial, and municipal waste waters is receiving increased attention these days, with much more to be done. Besik⁶ has recently described a pilot plant that yields excellent

results in the removal of contaminants in domestic sewage. Indications are that renovation of domestic waste water to potable levels is feasible. Fungal digestion of food processing wastes, using *Thichoderma viride* and *Gleocladium deliquescens*, is efficient and economical. In fact, Church and associates¹², and others, believe that the surface has only been scratched in applications of the fungal conversion process of carbohydrate wastes from food canning operations.

Food Microbiology

The development of food microbiology has helped make it possible for mankind to live in large cities and still consume many foods that are highly perishable. But this does not mean that modern food industry is free of problems. Today the production, preservation, and public health regulations of many foods, including dairy products, are so complex that the food industry is more dependent on microbiology than ever before. The appalling fact that as much as a quarter of the food produced in the world never reaches the consumer, partly because of microbial spoilage, needs attention.

Food-borne intoxications with clostridial and staphylococcal toxins, and food-borne infections with various enteric bacteria, have been known for many years. Such diseases account for about 65% of all food-borne outbreaks. Viruses account for another 2.4%, parasites 3.3%, and chemicals 7.3%. But 22% of the outbreaks are of unknown etiology and should be studied more extensively.

The discovery and importance of various mycotoxins in animal and human diseases have opened a new area in food technology and public health that is in its infancy. For example, fusariotoxin T-2 produced by *Fusarium tricinctum* causes toxicosis in farm animals, is a potent skin irritant and inflammatory agent, produces severe mouth lesions when fed to rats and chickens, and causes sloughing of the intestinal mucosa in trout. But a more important feature of fusariotoxin is its possible role in alimentary toxic aleukia in human beings⁶³; this relationship demands further study.

Until recently *Vibrio parahaemolyticus* was only implicated in Japan as the cause of human food poisoning among persons consuming uncooked seafoods⁶⁴. But it has now been incriminated in other countries as causing cholera-like gastroenteritis, wound infections, and diseases of marine invertebrates. Johnson & Liston²⁵ have recently suggested that monitoring programs should be instituted for high-risk seafoods, and also for shellfish during warm periods of the year. Because *V. parahaemolyticus* and *V. alginolyticus* commonly occur in the same places and have many characteristics in common, except for

pathogenicity, Johnson & Liston propose that *V. alginolyticus* may serve as a useful organism for indicating contamination. This proposal should be considered.

Reducing the number of microorganisms, especially salmonellae, on butchered animal and poultry carcasses is an important problem both from a standpoint of health and for extending the keeping qualities of the meat. Solving the problem has been approached in a number of ways such as washing the carcasses with hot water, weak organic acids, or chlorine solutions. The best control of microorganisms seems to be enforcement of strict sanitary procedures during slaughter and processing, followed by spraying the carcasses with a solution of acetic acid⁸. But improved microbiological methods, and better classification of the offending organisms, are required in the meat and poultry industries. This is illustrated by the recent paper by Davidson, Dowdell & Board¹⁷. For a long time it has been assumed that the gram-negative bacteria isolated from refrigerated meat belong either to the genera *Achromobacter* or *Pseudomonas*. But Davidson, Dowdell & Board have now demonstrated that when such bacteria are correctly classified many of them more properly belong to the genera *Moraxella* and *Acinetobacter*. Again such a study illustrates the significance of good taxonomy and culture preservation.

The manufacture of fermented meat products (pepperoni, etc.) represents a valuable industry in many countries, but there are few reported studies on the microbiological aspects of the processes. Starter cultures of *Lactobacillus* species and *Pediococcus cerevisiae* have been employed. But many manufacturers use only chance inoculations that require long holding time for the fermentation; this provides an opportunity for some food-poisoning organisms, especially *Staphylococcus aureus*, to cause problems¹⁵.

Spices, dehydrated onions⁵⁰ and other vegetables are now widely used in the formulation of many food products. Harmful organisms, such as *Clostridium botulinum*, salmonellae, and staphylococci, are not normally present in the dehydrated vegetables. But various species in the genera *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Lactobacillus*, and *Micrococcus* may be present. Although such organisms may not be detrimental to health, they are often responsible for relatively high plate counts in the finished food products. Improved technological studies in the future may eliminate such microbiological problems.

Extension of the shelflife of such highly perishable foods as fish⁷, prevention of the bloating of brine-fermented cucumbers in pickle manufacture²⁰, the employment of sanitary measures in the processing of frozen fruits and vegetables⁵², and many other problems hold a great future for work in food microbiology.

In a similar manner the production and control of milk and dairy products depend on good microbiology. Improved techniques are necessary for the detection of pathogens in milk of infected animals, such as the one recently developed by Farrell & Robertson¹⁹ for the isolation of brucellae by direct culture.

Industrial Microbiology

Many substances of importance are now produced commercially by microbial processes. Some of the more traditional fermented foods and industrial chemicals are so well known that they will not be mentioned here, other than to say that the methods are continually being improved by new technologies and by genetic selection of strains that give higher yields or better products.

The attention that is being given to the development of new industrial processes is of interest. Demands will continue for new products, and mankind will have to become more and more dependent upon the useful qualities of microorganisms. This is seen from the extensive results of the recent International Fermentation Symposium⁵⁸.

A current and future potential for microorganisms is their use in the commercial production of enzymes for industrial, medical, and pharmaceutical purposes. Ten or more microbial enzymes, ranging from amylase to glucose oxidase, invertase, and lactase on to penicillinase and proteases, are now available commercially. Some of these are produced in quantities of thousands of kilograms.

For some time research has been underway to convert domestic sewage and some industrial wastes to valuable substances by using algae, fungi, and bacteria. This work has been primarily concerned with improving the quality of the water into which the wastes are being discharged^{6,12}. With the growing protein shortage in the world, however, the conversion of wastes and excess carbohydrate materials to nitrogenous substances is becoming highly significant. Several industrial companies are conducting research in this field, and some have built plants that will produce thousands of kilograms of microbial protein per year. These proteins are of high biological value, and they are well tolerated as feed supplements for animals and birds, but less so by human beings. This area of industrial microbiology is in its infancy, but it will undoubtedly grow rapidly in the future.

Because of the growing concern for better and less poisonous insecticides, there is a great opportunity for developing large-scale production of bioinsecticides consisting of bacteria or viruses. *Bacillus thuringiensis* is now on the market as a dust, wettable powder, and liquid preparation for spraying crops and trees to destroy the cabbage looper, gypsy moth,

grubworms in lawns, etc. The product (Thuricide) was used last year on more than 20,000 acres of trees in the United States to control the gypsy moth. Some 20 to 40 insect viruses also show promise as bioinsecticides. This field should develop extensively in the future.

New approaches need to be considered in the testing and standardization of such antimicrobial agents as antibiotics, antiseptics and disinfectants. More data will need to be available to convince public health authorities and the public in general that such agents are specific for microorganisms and harmless for human beings. The addition of such substances to animal feeds, perishable foods, soaps and related products may not be harmful to human beings, but they will be regulated until more is known about their side effects.

Two novel uses of microorganisms have recently been described in the popular press and they are interesting to mention. A detector is now commercially available that employs special mutants of luminescent bacteria, which emit light in the presence of one or a group of several substances⁴⁶. Bacteria are supposedly available for detection of various explosives, air pollutants and toxic gases, and drugs such as heroin. The detector consists of the bacteria, probes attached to a small pump to draw air into contact with the bacteria, and a photocell to measure any emitted light. The bacteria come in freeze-dried cartridges that must be activated 24 hours before use; the bacteria are then active for about 8 hours.

A recent article from Tel Aviv University reports that a mutant of a species in the genus *Arthrobacter* may be employed to help prevent polluting the oceans with oil spills from the world's tanker fleet. An empty tanker on its return voyage to pick up more oil uses sea water as ballast, but the tanks also contain a residue of several thousand liters of crude oil. By adding nitrogenous nutrients and salts to the tanks, and then inoculating them with the bacteria, the oil residue can be decomposed and is therefore not discharged into the ocean with the ballast water. According to Rosenberg associates at Tel Aviv, the bacteria may not only clean the tanks of an oil transport, but may yield valuable products. For example, a 200,000 ton supertanker could yield 200 tons of dewaxed material, and 150 tons of high quality animal food.

Microbial Ecology

Mention has been made several times to relationships that exist among various mixed populations of microbes in natural ecosystems, since microorganisms rarely occur in pure culture in nature. We know, there may be present in a gram of soil as many as a billion

bacteria, actinomycetes, protozoa, and algae; river water may contain several thousand organisms per milliliter, depending upon its character; and the intestinal tract of animals and human beings may harbor a great variety of microbes in varying numbers.

In spite of our awareness that microbial interactions go on continuously in the biosphere, we know little about these phenomena under natural conditions to say nothing about the alterations that may come when man-made pollutants are discharged into the environment. Some progress is being made in analyzing the complex biological phenomena associated with microbial dynamics, however, and hopefully future studies will give us more knowledge about nature.

Microbial populations are being studied in soil and aquatic environments. Efforts are being made to determine the effects of domestic and industrial sewage pollution on the microbial populations in rivers and lakes¹⁰. But additional studies are essential to establish base-line data so that the effects of chemical, thermal, and related pollutants can be measured. Microbial monitoring or surveillance programs must be initiated, since it may be as important to know the effects of pollutants on the various microbial populations as on higher forms of life.

Another interesting example of microbial ecology may be cited. The digestion of cellulose, pectin, and other food materials in the rumen of cattle and related ruminants by a symbiotic association of certain bacteria and protozoa has been studied by Bryant, Czernawski, Dehority, Hungate, Wolfe, and their colleagues. In their reports, and a recent paper by Tomerska & Wojciechowicz⁵⁶, several genera of bacteria and protozoa are mentioned as being involved in the rumen fermentation. The bacterial genera include: *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Lachnospira*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Selenomonas*, and *Succinimonas*. The bacteria are supposedly predominant in the rumen, but the fermentation also requires species of protozoa in the genera *Isotricha*, *Entodinium*, *Dasytricha*, and *Ophyroscalex*. The important points to make here about these organisms and the rumen fermentation are (i) the taxonomic relationships among these microorganisms are not well understood at this time, and they need further study; and (ii) such cultures should be preserved in culture collections until more can be learned about their characteristics.

These general examples of microbial ecology can be multiplied many times, and signs for the future of the field are bright. In fact, I believe interesting results will come from the following:

- 1) The Applied Microbial Ecology and other sessions at the GIAM IV Conference*. Papers in the

* July 23-28, São Paulo, SP, Brasil.

ecology meetings will cover soil pollution, geomicrobiology, algae in waste recovery, and the significance of microbiological recycling.

2) The Symposium on Microbial Interaction with Pollutants at the International Congress for Bacteriology in Israel in September (1973); and

3) The newly established International Commission on Microbial Ecology (ICOME) in the International Association of Microbiological Societies. The officers (Martin Alexander, *Chairman*; J. W. M. La Riviere, *Secretary*) and members of this Commission are doing an excellent job of pointing out the significance of microorganisms in the biosphere, and serving on various national and international committees; for example, La Riviere is a member of the Scientific Committee on Problems of the Environment (SCOPE).

Clinical Microbiology and Immunology

Clinical microbiology and immunology have been of great help for many years in the diagnosis and treatment of animal and human infectious diseases, and we know they are partly responsible for medicine and public health advancing to their current high state. Research and diagnostic work in these fields are extensive today, and future trends seem clearly defined in the following few examples of published articles:

1) Comparison of anaerobic methods for isolating anaerobic bacteria, especially nonsporeformers, from clinical specimens³⁰.

2) Rapid detection of pneumococcal capsular material in the serum and urine of patients by counterimmunolectrophoresis¹⁴.

3) A simple and rapid microneutralization method for differentiating antibody responses to *Herpesvirus hominis* types 1 and 2⁴³.

4) The use of organ cultures to diagnose acute respiratory-tract infections in cases that do not yield a causative agent by ordinary microbiological methods²³.

5) Rapid and sensitive radioimmune assay for type A toxin of *Clostridium botulinum*⁹.

6) Direct and indirect solid-phase microradioimmunoassays for viral antigens and antibodies⁴⁷.

7) Rapid assay for staphylococcal enterotoxin A by reversed immunoosmophoresis³¹.

8) Laboratory identification by clinically important aerobic actinomycetes⁵.

9) Confirmation of *Neisseria gonorrhoeae* in 1 to 4 hours with a rapid sugar-fermentation method²⁸.

10) Automation of the indirect fluorescent-antibody test for toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*)²⁶.

11) Current trends in automation^{35,54}.

12) Additional studies on various antibacterial agents such as new commercial antibiotics, and such substances as the bacteriocins⁴⁵.

Studies such as these, and the important symposium on rapid methods and automation in microbiology held in Stockholm 4 to 8 June 1973, indicate that the future of clinical microbiology will be directed more and more toward rapid and sensitive methods that lend themselves to automation. But at the same time better international standards must be established for many microbiological and immunological procedures; for example, pleas have already been made for international standards for antibiotic testing.

Plant Microbiology

Many microbiologists do not realize the extensive work that is carried on by plant pathologists, horticulturalists, and others concerned with plant growth and diseases. Mention has already been made in the section on Soil Microbiology of the significance of nitrogen-fixing bacteria on plant growth, and organisms in the rhizosphere. Thus discussion of the future of these important topics will not be repeated here.

Interesting work is beginning on the factors that influence the activities of microorganisms on the leaf and other surfaces of plants (*Nature*, 242:14, 2 March 1973). Water on foliage releases substances from leaves, especially older ones, that influence the growth of microorganisms. Spraying plants with various herbicides, or insecticides, may produce beneficial or adverse effects on the associated microbial flora. Air pollutants also alter the microflora on the leaf surface. Such studies should be extended, since they will undoubtedly have practical application, especially on plants used for food.

The control of microbial plant diseases continues to be a major problem and extensive research in the field is necessary. In one recent monthly issue of the U.S. Department of Agriculture Plant Disease Reporter some 34 plant diseases were listed, ranging from a new *Helminthosporium* leaf blight of corn to pollen transmission of ring spot virus in cherry orchards. Actually the number of bacterial, fungal, protozoan, and viral diseases of plants is almost limitless. Of interest are new observations that a rickettsia-like organism for the first time appears to be the cause of diseases in grapevines and alfalfa²¹, and certain strains of *Erwinia* and some viruses are pathogenic for both plants and insects (*Nature*, 242:87-88, 9 March, 1973). This latter discovery should be taken into consideration as new microbiological methods are developed for combating crop pests. Even more important was the recent announcement in England that human viruses may infect plants and that, as a corollary, plants may serve as a reservoir of human

viruses. Such a situation would violate all existing theories about viral activity, but as just mentioned it is known that plant microorganisms sometimes infect and kill insects. These observations need to be confirmed, but they may serve as the basis for the development in the near future of an important field of comparative microbiology.

From these remarks I have tried to indicate that

microbiology is currently in a position to make great contributions to the health and welfare of mankind. The major problem is whether ingenious and well-informed microbiologists can convince the public that the beneficial activities of the microbial world can be exploited. I challenge you to discover more of the wonders of microorganisms, and to apply the results to the improvement of civilization.

References

1. ASCHBACKER, P.W. — Air pollution research needs: livestock production systems. *J. Air Pollut. Control Ass.*, 23:627-272, 1973.
2. BALICAK, N.; KOSINKIEWICZ, B; MUSIAL, M. & STANKIEWICZ. — Deactivation of R_g seed dressing by *Arthrobacter* sp. 2b. *Acta microbiol. Pol. Ser. B.*, 5(22):3-8, 1973.
3. BARRON, S.; FINTER, N.B.; GALASSO, G.J.; GLASGOW, L.A. & YOUNGER, J.S. — Interferon. *Science*, 180:779-784, 1973.
4. BARTLING, G.J.; BROWN, H.D. & CHATTOPADHYAY, S.K. — Synthesis of matrix-supported enzyme in non-aqueous conditions. *Nature*, 243:342-344, 1973.
5. BERD, D. — Laboratory identification of clinically important aerobic actinomycetes. *Appl. Microbiol.*, 25: 665-681, 1973.
6. BESKIK, F. — Renovation of domestic wastewater. *Water Sewage Works*, 120:78-83, 1973.
7. BEUCHAT, L.R., HEATON, E.K. & BOGESS, Jr., T.S. — Preservation of channel catfish with some selected chemicals. *J. Food Sci.*, 38:531-535, 1973.
8. BIEMULLER, G.W.; CARPENTER, J.A. & REYNOLDS, A.E. — Reduction of bacteria on pork carcasses. *J. Food Sci.*, 38:261-263, 1973.
9. BOROFF, D.A. & SHU-CHEN, G. — Radioimmunoassay for Type A toxin of *Clostridium botulinum*. *Appl. Microbiol.*, 25:545-549, 1973.
10. BUNGAY, H.R. III & KRIEG, N.R. — Chem. Eng. Prog. Symp. 62:68. Virginia Polytechnic Institute, Blacksburg, Virginia, 1966.
11. CHO, H.J. & INGRAM, D.G. — Isolation, purification and structure of Aleutian disease virus by immunological techniques. *Nature New Biol.*, 243:174-176, 1973.
12. CHURCH, B.D.; ERICKSON, E.E. & WIDMER, C.M. — Fungal digestion of food processing wastes. *Food Technol.*, 27:36-37, 39-40, 42, 1973.
13. COHEN, J. & SHUVAL, H.I. — Coliform, fecal coliforms, and fecal streptococci as indicators of water pollution. *Water, Air and Soil Pollut.*, 2:85-95, 1973.
14. COONROD, J.D. & RYTEL, M.W. — Detection of type specific pneumococcal antigens by counter-immunoelectrophoresis. I. Methodology and immunologic properties of pneumococcal antigens. II. Etiologic diagnosis of pneumococcal pneumonia. *J. Lab. clin. Med.*, 81:770-786, 1973.
15. DALY, C.; CHANCE, M. Ia; SANDINE, W.E. & ELLIKER, P.R. — Control of *Staphylococcus aureus* in sausage by starter cultures and chemical acidulation. *J. Food Sci.*, 38:426-430, 1973.
16. DAVEY, M.R. & COCKING, E.C. — Uptake of bacteria by isolated higher plant protoplasts. *Nature*, 239:455-456, 1972.
17. DAVIDSON, C.M.; DOWDELL, M.J. & BOARD, R.G. — Properties of gram negative aerobes isolated from meat. *J. Food Sci.*, 38:303-305, 1973.
18. EHRLICH, H.L.; GHIORSE, W.C. & JOHNSON, G.L. II, — Distribution of microbes in manganese nodules from the Atlantic and Pacific Oceans. *Develop. industr. Microbiol.*, 13:57-65, 1972.
19. FARRELL, I.D. & ROBERTSON, L. — A comparison of various selective media, including a new selective medium for the isolation of brucellae from milk. *J. appl. Bact.*, 35:625-630, 1972.
20. FLEMING, H.P.; THOMPSON, R.L.; ETCHELLS, J.L.; KELLING, R.E. & BELL, T.A. — Bloater formation in brind cucumbers fermented by *Lactobacillus plantarum*. *J. Food Sci.*, 38:499-503, 1973.
21. GOHEEN, A.C.; NYLAND, G. & LOWE, S.K. — Association of a rickettsia-like organism with Pierce's disease of grapevines and alfalfa dwarf and heat therapy of the disease in grapevines. *Phytopathology*, 63:341-345, 1973.
22. GNARPE, H. & FRIBERG, J. — T-mycoplasmas as a possible cause for reproductive failure. *Nature*, 242: 120-121, 1973.
23. HIGGINS, P.G. & ELLIS, E.M. — Further observations on the use of organ cultures in the study of acute respiratory-tract infections. *J. med. Microbiol.*, 6:177-185, 1973.
24. HOUGEN, K.H.; BIRCH-ANDERSEN, A. & JENSEN, H.J. S. — Electron microscopy of *Treponema cuniculi*. *Acta path. microbiol. scand. Ser. B.*, 81:15-26, 1973.
25. JOHNSON, H.C. & LISTON, J. — Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to cold in oysters, fish fillets and crabmeat. *J. Food Sci.*, 38:437-441, 1973.
26. KAUFMAN, G.I.; REMINGTON, J.S. & WATERS, H. C. — Automation of the indirect fluorescent antibody test for toxoplasmosis. *Appl. Microbiol.*, 25:724-730, 1973.
27. KAWAGUCHI, K.; TANIDA, S.; MATSUDA, K.; TANI, Y. & OGATA, K. — Microbial synthesis of GDP-glucose. *Agr. biol. Chem.*, 37:75-81, 1973.
28. KELLOGG, D.S. & TURNER, E.M. — Rapid fermentation confirmation of *Neisseria gonorrhoeae*. *Appl. Microbiol.*, 25:550-552, 1973.
29. KENNY, G.E. (GENERAL CHAIRMAN). — Workshop on the mycoplasmatales as agents of disease. I. Biology of the Mycoplasmatales. II. Immunology. *J. infect. Dis.*, 127:S1-S92, 1973.

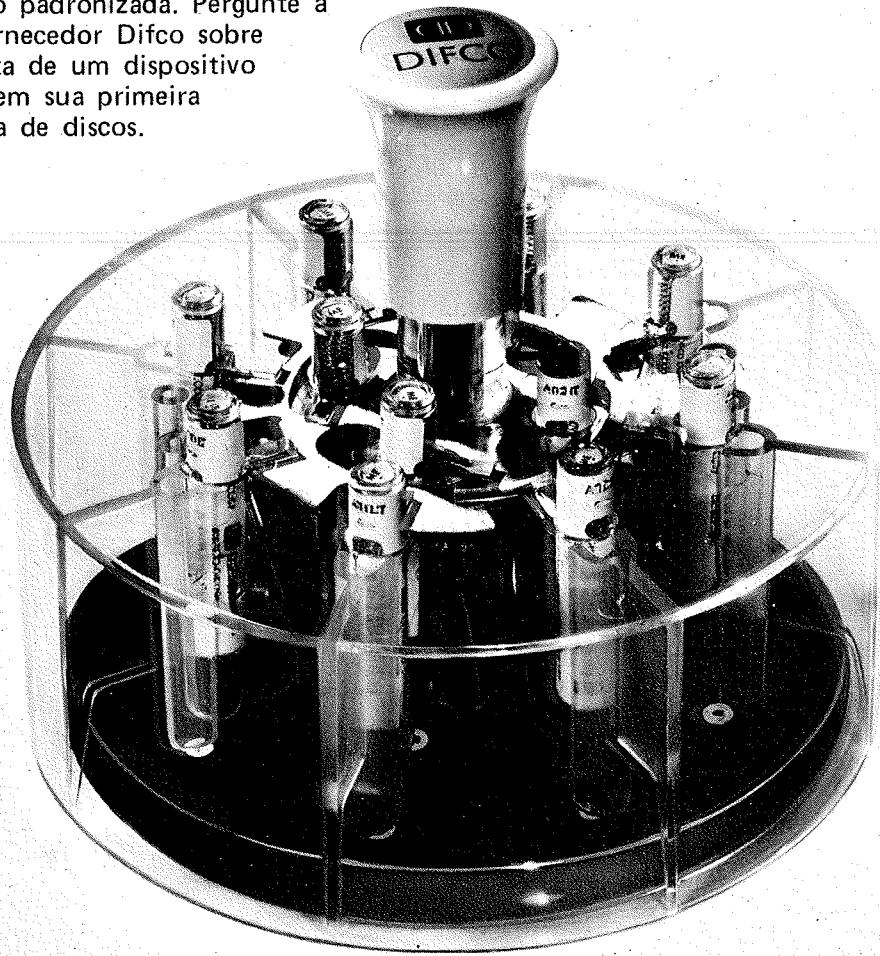
30. KILLGORE, G.E.; STARR, S.E.; DELBENE, V.E.; WHALEY, D.N. & DOWELL Jr., V.R. — Comparison of three anaerobic systems for the isolation of anaerobic bacteria from clinical specimens. *Amer. J. clin. Path.*, 59:552-559, 1973.
31. KIMBLE, C.E. & ANDERSON, A.W. — Rapid, sensitive assay for staphylococcal enterotoxin A by reversed immuno-osmophoresis. *Appl. Microbiol.*, 25:693-694, 1973.
32. KODAMA, K.; UMEHARA, K.; SHIMIZU, K.; NAKATANI, S.; MINODA Y. & YAMADA, Y. — Identification of microbial products from dibenzothiophene and its proposed oxidation pathway. *Agr. biol. Chem.*, 37:45-50, 1973.
33. KOLLONITSCH, J.; BARASH, L.; KAHAN, F.M. & KROPP, H. — A new antibacterial agent by photofluorination of a bacterial wall constituent. *Nature*, 243: 346-347, 1973.
34. LAPAGE, S.P.; CLARK, W.A.; LESSEL, E.F.; SEELIGER, H.P.R. & SNEATH, P.A. — Proposed revision of the International Code of Nomenclature of Bacteria. *Int. J. system. Bact.*, 23:83-108, 1973.
35. LEEMING, R.J. & GRAHAM, H.P. — An automated method for microbiological assays. *Med. Lab. Technol.*, 30:21-25, 1973.
36. LEVINE, M.M.; DU PONT, H.L.; FORMAL, S.B.; HORNICK, R.B.; TAKEUCHI, A.; GANGAROSA, E.J.; SNYDER, M.J. & LIBONATI, P.J. — Pathogenesis of *Shigella dysenteriae* 1 (Shiga) dysentery. *J. Infect. Dis.*, 127:261-270, 1973.
37. MALISZEWSKA, W. & NIEYCHOWSKA, Z. — Effect of lyophilization on morphological and physiological properties of some strains of *Azotobacter* and *Beijerinckia*. *Acta microbiol. pol., Ser. B.*, 5(22):9-19, 1973.
38. MILLER, J.N. — Immunity in experimental syphilis. VI. Successful vaccination of rabbits with *Treponema pallidum* attenuated by γ -irradiation. *J. Immunol.*, 110: 1206-1215, 1973.
39. MILLS' D.R.; KRAMER, F.R. & SPIEGELMAN, S. — Complete nucleotide sequence of a replicating RNA molecule. *Science*, 180:916-927, 1973.
40. NAGEL, J. & COHEN, H. — Studies on tetanus antitoxin. II. Demonstration of at least four antitoxins of different specificity in antitoxic sera. *J. Immunol.*, 110:1388-1395, 1973.
41. OFFNER, H.; AMMITZBOLL, T. & CLAUSEN, J. — The occurrence of measles antigen precipitating antibodies in sera from patients with multiple sclerosis and their relatives. *Acta pathol. microbiol. scand., Sec. B.*, 81: 157-164, 1973.
42. ORSKOV, I.; ORSKOV, F. & ROWE, B. — Three new *Escherichia coli* O antigens 0154, 0155, and 0156 and one new K antigen, K94. *Acta path. microbiol. scand. Sec. B.*, 81:59-64, 1973.
43. PEAD, P.J. & HOLLEY, A. — Estimation of virus-neutralizing antibody in microplates. *J. clin. Path.*, 26:17-20, 1973.
44. RAO, V.R.; RAO, N.S.S. & MUKERJI, K.G. — In vitro effects of some growth regulators on *Rhizobium*. *J. gen. appl. Microbiol.*, 19:55-58, 1973.
45. REEVES, P. — The bacteriocins. pp. 242. London, Chapman and Hall, 1973.
46. RORVIK, D.M. — Present shock. *Esquire* 80(1):168. July, 1973.
47. ROSENTHAL, J.D.; HAYASHI, K. & NOTKINS, A. L. — Comparison of direct and indirect solid-phase microradioimmunoassays for the detection of viral antigens and antibody. *Appl. Microbiol.*, 25:567-573, 1973.
48. RUBENSTEIN, S.H.; FENTERS, J.; ORBACH, H.; SHUBER, N.; REED, J. & MOLLOY, E. — Viruses in metropolitan waters: concentration by polyelectrolytes freeze concentration, and ultrafiltration. *J. Amer. Water Works Ass.*, 65:200-202, 1973.
49. SCHERFF, R.H. — Control of bacterial blight of soybean *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Phytopathology*, 63:400-402, 1973.
50. SHENEMAN, J.M. — Survey of aerobic mesophilic bacteria in dehydrated onion products. *J. Food Sci.*, 38:206-209, 1973.
51. SILVEY, J.K.G.; SHARP, H.B.; DICKSON, K.L.; ALLISON, R.C. & STILES, J.C. — Some effects of evaporation suppression on reservoir ecology. *J. Amer. Water Works Ass.*, 65:260-268, 1973.
52. SPLITSTOESSER, D.F. — The microbiology of frozen vegetables. *Food Technol.*, 27:54, 56, 60, 1973.
53. STAIRMAND, C.J. — England's steps towards cleaner air. *Water and Pollut. Control.*, 111:54-56, 1973.
54. STEVENS, J.R. — Current trends in automation: a review. *Med. Lab. Technol.*, 30:139-144, 1973.
55. TADEUSZ, J.W.; GYORGY, E.; SCHLUMBERGER, H.D.; SOKOL, F. & KOPROWSKI, H. — Antigenic properties of rabies virus components. *J. Immunol.*, 110:269-276, 1973.
56. TOMERSKA, H. & WOJCIECHOWICZ, M. — Utilization of the intermediate products of the decomposition of pectin and of galacturonic acid by pure strains of rumen bacteria. *Acta microbiol. pol., Ser. B.*, 5(22):63-69, 1973.
57. TRAAVIK, T.; KJELDSBERG, E. & SIERBKE, J.C. — The effects of detergent-treatment of the morphology of Australia antigen positive particles. *Acta pathol. microbiol. scand., Sec. B.*, 81:37-42, 1973.
58. TURI, G. (Ed.). — Proceedings of the IVth International Fermentation Symposium. pp. 890. *Soc. Fermentation Technol.*, Japan, 1973.
59. UMEZAWA, H. — Enzyme inhibitors of microbial origin. pp. 114. Univ. Tokyo Press, 1972.
60. VANDER VELDER, T.L. & MACK, W.N. — Poliovirus in water supply. *J. Amer. Water Works Ass.*, 65:345-346, 347-348, 1973.
61. WALSH, F. & MITCHELL, R. — Differentiation between *Gallionella* and *Metallogenium*. *Arch. Mikrobiol.*, 90: 19-25, 1973.
62. WESTENBERGER, J.A. & MERMELSTEIN, N.H. — Solving air pollution problems. *Food Technol.*, 27:44, 46-47, 1973.
63. WYATT, R.D.; WEEKS, B.A.; HAMILTON, P.B. & BURMEISTER, H.R. — Severe oral lesions in chickens caused by ingestion of dietary fusariotoxin T-2. *Appl. Microbiol.*, 24:251-257, 1972.
64. ZEN-YOJI, H.; LeCLAIR, R.A.; OHTA, K. & MONTAGUE, T.S. — Comparison of *Vibrio parahaemolyticus* cultures isolated in the United States with those isolated from Japan. *J. infect. Dis.*, 127:237-241, 1973.

Por que nossos antibiogramas são os melhores?

O sistema *Dispens-O-Disc* da Difco oferece vantagens inigualáveis a seu laboratório para a realização de antibiogramas:

- discos em magazines individuais que funcionam como o próprio dispositivo e dispensam pinças ou adaptadores para utilização;
- coleção completa de discos e concentrações, inclusive Bactrim, Rifampicina e antimicrobianos mais recentes;
- dispositivos para 8 e 12 magazines, que permitem colocar os discos sobre a superfície do agar segundo posição padronizada. Pergunte a seu fornecedor Difco sobre a oferta de um dispositivo grátis em sua primeira compra de discos.

Se se preocupa com a qualidade de seus antibiogramas e valoriza seu tempo, não duvide — Difco lhe oferece o melhor sistema para antibiogramas e o processo mais econômico para seu laboratório.



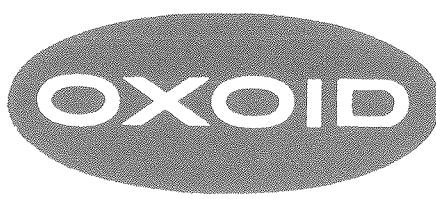
Para informações adicionais,
entre em contato conosco:

DIFCO LABORATORIES
Caixa Postal 3072
01000 São Paulo SP

DIFCO LABORATORIES

Detroit, Michigan 48232, USA

COLUMBIA AGAR BASE



Uma nova base para agar-sangue

Columbia Agar Base OXOID combina as propriedades das bases tradicionais apresentando acentuada melhoria de rendimento em geral.

D. S. T. AGAR BASE

- seguramente o mais indicado para antibiogramas
-
- não impede a difusão de antibióticos, sulfonamidas e antissépticos urinários.

SOLICITEM-NOS

LITERATURA

CONSULTEM-NOS

SEMPRE

MULTODISCOS PARA ANTIBIOGRAMAS

- seleção racional dos agentes
-
- práticos e econômicos

Distribuidora exclusiva:

Companhia Equipadora de Laboratórios Modernos

Rua Barata Ribeiro, 369 — Caixa Postal 4022

Fones: 256-0508 / 256-1682 / 256-9848 / 257-1831

SAO PAULO — SP

