

Atividade antibacteriana do *Aspergillus flavus* (*)

por

Adolpho da Rocha Furtado

Biologista

(Com 8 gráficos no texto)

Sumário:

- I — Considerações gerais
- II — Material e método utilizados
- III — Resultados
- IV — Conclusões
- V — Bibliografia

I — CONSIDERAÇÕES GERAIS

A biologia dos cogumelos tem assumido, ultimamente, importância capital, em virtude da recente descoberta de diversas substâncias antibióticas.

Desde VAUDREMER (1910, 1913), conhecemos a capacidade antibacteriana de alguns cogumelos; todavia, só após a descoberta da penicilina por FLEMING (1929) êsses estudos cresceram de interêsse e hoje são numerosas as substâncias antibacterianas conhecidas e estudadas.

Em recente revisão de 100 amostras de várias espécies de cogumelos WILKINS e HARRIS (1942) encontraram atividade antibacteriana em 30; de 47 amostras de *Aspergillus*, 18 apresentaram-se com atividade; de 34 amostras de *Penicillium*, 9 foram positivas e das 19 amostras de cogumelos imperfeitos, apenas 3 mostraram-se com atividade. Como vemos, os generos *Aspergillus* e *Penicillium* foram os mais focalizados e os que apresentaram maior percentagem de amostras com atividade antibacteriana.

No presente trabalho, realizado na Seção de Micologia do Instituto Oswaldo Cruz, estudamos a atividade antibacteriana de tôdas as culturas de *Aspergillus flavus* da coleção desta Seção. Em outro trabalho, publicaremos os resultados de idêntico estudo em relação às demais amostras de *Aspergillus*, de que dispomos.

(*) Pesquisa e dosagem da atividade antibacteriana de 12 amostras de *Aspergillus flavus* da Seção de Micologia do Instituto Oswaldo Cruz.

* Recebido para publicação a 1 de julho e dado à publicidade em agosto de 1944.

O *Aspergillus flavus* tem merecido a atenção dos pesquisadores, por ser, reconhecidamente, uma espécie antibiotica. Assim é que WHITE (1940) estudou uma amostra de *Aspergillus flavus*, identificada pelo Dr. CHARLES THOM, de Washington, a qual cresce, facilmente, em meios líquidos e dá filtrados bactericidas para alguns germes gram-positivos e gram-negativos. Nesse trabalho, WHITE faz referências a outra amostra de *Aspergillus flavus* totalmente inativa e a vários representantes do grupo *oryzae-flavus* que mostraram resultados discordantes. GLISTER (1941), pouco depois de WHITE, estuda um cogumelo, considerado por ele como *provavelmente* pertencente ao gênero *Aspergillus*; o autor ignora se há alguma relação com o agente bactericida dos filtrados de cultura do *Aspergillus flavus* descrito por WHITE, mas verificou que inibe o crescimento de organismos gram-positivos e gram-negativos a uma diluição aproximada de 1: 200.000. A substância ativa de GLISTER é, segundo MENZEL, WINTERSTEINER e RAKE (1943), idêntica ao ácido aspergílico, embora as características culturais desse cogumelo sejam diferentes das do *Aspergillus flavus*. WHITE e HILL (1942) referem-se a uma amostra de *Aspergillus flavus* (1) isolada, que apresenta atividade em meio com triptona ou peptonas, apesar de sua inatividade em meio Czapek-Dox. Tal substância apresentaria atividade contra *Streptococcus beta-hemolyticus* A, à diluição de 1: 40.000 e, a outras diluições, contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus fecalis*, *Aerobacter* e *Escherichia*.

Em 1943, foram descritas três substâncias, produzidas pelo *Aspergillus flavus*: ácido aspergílico, flavicina e flavacidina.

Acido Aspergílico — WHITE e HILL (1943) apresentam seu trabalho original com o estudo de uma substância cristalina ativa isolada por eles de culturas líquidas da amostra de *Aspergillus flavus* de WHITE.

“We propose to call our substance “aspergillic acid”, dizem eles nesta publicação.

Sugerem sua composição empírica, que seria $C_{12} H_{20} N_2 O_2$. Apresenta a atividade antibacteriana contra certas bactérias gram-positivas e gram-negativas e possui toxicidade relativamente alta, embora apresente ação protetora contra infecção experimental dos camundongos com *Streptococcus hemolyticus* e *Pneumococcus*. Os autores fizeram testes qualitativos e quantitativos da atividade antibacteriana do sal sódico do ácido aspergílico.

(1) Procuramos, atentamente, a referência bibliográfica correspondente a este “abstract”, publicado no JI. Bact., 1942, 43 (1) : 12 e não o encontramos; as bibliografias dos outros trabalhos sobre o assunto não fazem referências a esta publicação de WHITE e HILL em 1942. Isto nos impediu de ler o trabalho no original

Os primeiros testes nos mostram que, à diluição de 1: 1.000, o ácido aspergílico esteriliza meios com *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus beta-hemolyticus*, *Aerobacter aerogenes*, *Streptococcus fecalis* ou *Escherichia coli*, sendo que, à diluição de 1: 5.000, esteriliza os três primeiros.

Os testes quantitativos mostram-nos ainda sua ação bactericida à diluição de 1:5.000, para o *Staphylococcus aureus*, em 2 horas, assim como sua ação bacteriostática, até a diluição de 1:400.000 para vários outros germes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Pneumococcus* Tipo I, Grupo A *Streptococcus* 203 e g-*Streptococcus fecalis*).

Do estudo comparativo que os autores fizeram entre ácido aspergílico e sulfanilamida, vê-se que, sobre *Escherichia coli*, o ácido aspergílico tem uma ação mais pronunciada à diluição de 1:40.000 do que a sulfanilamida a 1:10.000.

JONES, RAKE e HAMRE (1943) publicaram, alguns dias depois de WHITE e HILL, um trabalho de grande interesse sobre as propriedades biológicas do ácido aspergílico bruto e purificado. Trabalharam com a própria amostra de *Aspergillus flavus* de WHITE, cultivada em Czapek-Dox e Sabouraud. A atividade anti bacteriana do ácido aspergílico obtido por estes autores é dosada pelo método de diluição comum, usando *Streptococcus pyogenes* e também pelo teste de antiluminescência. (1).

Comparando as curvas de atividade obtidas por JONES, RAKE e HAMRE (1943) com as nossas, podemos notar que a amostra de *Aspergillus flavus* por eles utilizada não chegou a impedir o *Staphylococcus aureus* em diluição superior a 1:50, nem mesmo com a junção de triptona e açúcar ao meio de cultura, enquanto algumas de nossas amostras de *Aspergillus flavus* apresentam atividade antibacteriana total contra o *Staphylococcus aureus* em diluição de 1:80 (culturas n.º 78, 140, 145, 249, 383 e 1.250). O ácido aspergílico isolado por JONES, RAKE e HAMRE apresenta-se muito ativo contra cocos gram-positivos e menos ativo contra os anaeróbios e bacilos gram-negativos.

Flavicina — Esta substância, descoberta por BUSH e GOTH (1943) e anteriormente denominada *aspergilina*, foi obtida de uma cultura de *Aspergillus flavus*, isolada como contaminação de *Penicillium notatum*. A amostra cresce bem em meios ordinários, especialmente, quando adicionada de dex-

(1) A propósito do emprêgo de bactérias luminescentes (*Photobacterium fischeri*) na dosagem de atividade antibacteriana de certas substâncias, RAKE, MCKEE e JONES (1942) fizeram interessante comunicação, pela qual se verifica tratar-se de um processo que permite a leitura dentro de 30 minutos e cujos resultados, em 33% dos casos, são idênticos ao processo de diluição habitual com *Streptococcus pyogenes* C203. O método, segundo afirmam os autores, não se adapta à dosagem da penicilina.

tróse ou outros açúcares. Semeada em cultura de *Staphylococcus aureus* ou *Staphylococcus albus* cresce bem em superfície e os estafilococos são dissolvidos em 2-3 dias a 37.°C. Na dosagem da flavicina, adotam os autores o seguinte critério de unidade antibacteriana: "é a quantidade de substância ativa que, dissolvida em 1cm³ de caldo inibe o crescimento de nossa amostra de *Staphylococcus aureus* (inoculação standard aproximadamente 40.000 organismos por cm³) em 24 horas"; isto significa que o material que apresenta atividade à diluição de 1:1.000 contém 1.000 unidades por cm³. Dentro deste critério, as culturas estudadas pelos autores se apresentaram, entre o 6.º e o 8.º dias, com atividade de 10-30 unidades por cm³. É, aproximadamente, a atividade apresentada pela maioria das culturas por nós estudadas. Após purificação parcial, a flavicina produz completa bacteriostase em 24 horas, às seguintes diluições e contra os seguintes germes:

- 1:625.000 — *Streptococcus hemolyticus* e *Bacillus anthracis*.
- 1:312.500 — *Corynebacterium diphtheriae*.
- 1:125.000 — *Staphylococcus aureus* e *S. albus*.
- 1: 16.600 — *Brucella abortus*.
- 1: 6.250 — *Bacillus subtilis*.
- 1: 1.250 — *Eberthella typhosa*, *Shigella dysenteriae*, *S. paradysenteriae* Flexner e *Vibrio cholerae*.

A esta última diluição, não eram inibidos *Salmonella paratyphi A.*, *S. paratyphi B.*, *Escherichia coli*, *Bacillus Friedländeri* e *Pasteurella pestis*.

A flavicina apresenta-se muito tóxica, quando em extrato bruto; à proporção que vai sendo purificada, sua toxicidade vai diminuindo.

Flavacidina — MCKEE e MAC PHILLAMY (1943), fazendo a cultura submersa do *Aspergillus flavus* (amostra de WHITE), obtiveram uma substância diferente do ácido aspergílico. Por suas características biológicas e químicas, a nova substância apresenta-se muito semelhante à penicilina. O estudo cromatográfico de seu sal sódico (com 240 unidades Florey por mgr.) mostrou que, na sua composição, estavam presentes o Carbono (45,36%), Hidrogênio (4,16%) Azoto (3,02%) e Sódio (13,36%). O estudo comparativo da nova substância com a penicilina, no que diz respeito à ação protetora contra infecção experimental dos camundongos pelo *Pneumococcus Tipo I*, veio mostrar, mais uma vez, a grande semelhança das duas substâncias.

Em estudo posterior, MCKEE, RAKE e HOUCK (1944) dão à nova substância a denominação de *flavacidina*. Em seu filtrado, os autores acreditam que exista também ácido aspergílico em pequenas quantidades, verificadas, espe-

cialmente, pelos testes de antiluminescência. Aliás, a produção de uma ou outra das duas substâncias — ácido aspergílico e flavacidina — pode ser feita com a mesma amostra, diferindo, apenas, o meio de cultura e o método de cultivo. São palavras de MCKEE, RAKE e HOUCK (144):

“The production of flavacidin instead of aspergillic acid by *Aspergillus flavus* appears to be a function both of type of medium and method of cultivation, thus when tryptone brown-sugar medium was used aspergillic acid was produced in static cultures and flavacidin in shaken cultures and the method of cultivation was the determining factor. It is probable that all crude filtrates of *Aspergillus flavus* cultures contain an admixture of the two antibiotic substances, the predominating substance being determined by method of cultivation” (pág. 191).

Não sabemos se a substância antibiótica, por nós encontrada e dosada entre as amostras de *Aspergillus flavus*, pertence a alguma destas acima estudadas. Pesquisas posteriores, que esperamos fazer em breve, esclarecerão o assunto.

II — MATERIAL E MÉTODO UTILIZADOS

Culturas

Tôdas as culturas utilizadas em nossas pesquisas pertencem à coleção da Seção de Micologia do Instituto Oswaldo Cruz.

Transcrevemos, a seguir, as fichas correspondentes às culturas estudadas:

Cultura n.º 25 — (1921) *Aspergillus flavus* LINK, 1791. Determinada por O. DA FONSECA; proveniente de Johns Hopkins Hospital, Baltimore; isolada de um caso de otomicose, clínica do professor CROWE; material do doente Mrs. Niller; segundo THOM é um organismo do grupo flavus, mas não inteiramente idêntico ao *Aspergillus flavus* típico.

Cultura n.º 78 — (1921) *Aspergillus flavus* LINK, 1791. Determinada por LASSEUR; proveniente de SCHMITTER com a nota: “338 *Aspergillus flavus* Dr. LASSEUR NANCY, Vuillemin Lab.”

Cultura n.º 140 — (1941) *Aspergillus flavus* LINK, 1791. Determinada por C. THOM e M. B. CHURCH; proveniente de Washington, D. C., Estados Unidos da América; isolado do milho; da coleção de THOM, n.º 3.557/9.

Cultura n.º 141 — (1921) *Aspergillus flavus* LINK, 1791. Determinada por C. THOM e M. B. CHURCH; proveniente de United States Department of Agriculture, Washington, D. C.; isolado de forragem; da coleção de THOM, n.º 128 scl.

Cultura n.º 143 — (1921) *Aspergillus flavus* LINK, 1791. Determinada por C. THOM e M. B. CHURCH; proveniente de Demerara; isolado de insetos parasitos da cana de açúcar; da coleção de THOM número 2.773.

Cultura n.º 143 — (1921) *Aspergillus flavus* LINK, 1791. Determinada por C. THOM; proveniente de Centralbureau voor schimmelcultures, Amsterdam; da coleção de THOM, n.º 108.

Cultura n.º 145 — (1921) *Aspergillus flavus* LINK, 1791. Determinada por C. WEHMER; proveniente de Hannover.

Cultura n.º 249 — (1921) *Aspergillus flavus* LINK, 1791. Determinada por C. THOM; proveniente da coleção de THOM, com a nota: "Quail" de caso de micose pulmonar dêsse animal; na lista M. B. C.: "Quail, case of aspergillosis"; (obs. Myc. pág. 14).

Cultura n.º 284 — (1921) *Aspergillus flavus* LINK, 1791. Determinada por C. THOM; proveniente da coleção de THOM, com o número 4.402 como vindo de Bangkok; na lista de M. B. C.: "Aspergillus flavus-orizae group. Bread. Bangkok Siam" (obs. Myc. p. 14).

Cultura n.º 383 — (1921) *Aspergillus flavus* LINK, 1791. Determinada por CHURCH; proveniente de sementeira de latas de pickles, isolado por MISS CHURCH; tanto a cultura original, como o repique obtido para a coleção foram feitos em gelose simples pelo que os aspectos característicos não aparecem; sementeira do mesmo material em Czapek-agar, porém, deu *Aspergillus flavus* típico (Obs. Myc. p. 14).

Cultura n.º 473 — (1921) *Aspergillus flavus* LINK, 1791. Determinada por BAINIER; proveniente da Faculté de Pharmacie de Paris.

Cultura n.º 1.250 — *Aspergillus flavus*; a proveniência desta amostra é desconhecida.

Meios de cultura

Antes de passarmos as amostras nos meios de cultura para pesquisa da atividade antibacteriana, repicamos em meio de Czapek-Dox sólido, a fim de trabalharmos com culturas recentes. Quando estas já se acham bem desenvolvidas, fizemos a sementeira em meios líquidos. Trabalhamos com dois meios:

1. Meio de RAULIN, ligeiramente modificado por MOSSERAY :

Sacarose	50,0
Ácido tartarico	0,40
Carbonato de magnésio	0,25
Nitrato de amônio	2,50
Carbonato de potássio	0,40
Fosfato de amônio	0,40
Sulfato de amônio	0,20
Sulfato ferroso	0,05
Sulfato de zinco	0,50

Água destilada q.s. para 1.000 cm³

Esterilizar a 120.°C por 20 minutos (Morfologia y Biología de los hongos — Técnica Micológica — Pablo Negróni — pág. 197).

2. — Meio com levêdo (Fórmula do DR. ARÊA LEÃO)

Levêdo de Fleischmann	10,0
Peptona bacteriológica	10,0
Cloreto de sódio	10,0

Água q.s. para 1.000 cm³

Hidroliza-se o levêdo pela adição de 5 % de ácido clorídrico e aquecimento a vapor fluente por 20 a 30 minutos. Deixa-se esfriar. Ajusta-se o pH a 7,0. Filtra-se em papel de filtro ou lã. Adicionam-se os outros componentes do meio. Reajusta-se o pH a 7,0. Distribuem-se 50 cc. em balões de 250 cm³, de modo que a camada não exceda de 2 cm de altura. Autoclave a 120.°C por 20 minutos.

Tôdas as amostras apresentaram ótimo desenvolvimento, em ambos os meios, à temperatura ambiente.

Método de pesquisa da atividade antibacteriana

A pesquisa da atividade antibacteriana foi feita no 6.º e 12.º dias após a sementeira, obedecendo à seguinte técnica: a 4 cm³ de caldo simples adicionávamos 1 cm³ do meio de cultura a ser dosado e 1 gota de uma cultura de 12 horas de *Staphylococcus aureus*, diluída a 1/20. Agitávamos fortemente o tubo. Partíamos, assim, da diluição inicial de 1/5; quando a esta diluição, a amostra apresentava-se ativa, prosseguíamos, com a técnica habitual, até a diluição de 1/160. A atividade antibacteriana era verificada pela

ausência de turvação do caldo, após 24 horas de permanência na estufa a 37.°C. A leve turvação do caldo era considerada como atividade parcial.

III — RESULTADOS

Como podemos ver dos gráficos e quadro anexos, estudamos, inicialmente, tôdas as culturas de *Aspergillus flavus*, pesquisando a atividade antibacteriana na diluição inicial de 1/5 e apenas no 6.º e 12.º dias. Posteriormente, em uma segunda fase do trabalho, particularizamos a pesquisa, trabalhando com diluições maiores (até 1/160) e durante 14 dias.

QUADRO I

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DAS AMOSTRAS DE ASPERGILLUS FLAVUS

<i>Aspergillus flavus</i> (n.º cultura)	MEIO COM LEVÊDO DILUIÇÃO DE 1/5		MEIO RAULIN & MOSSERAY DILUIÇÃO DE 1/5	
	6 dias	12 dias	6 dias	12 dias
25.....	±	—	—	—
78.....	+	+	+	±±
140.....	+	+	—	±±
141.....	±	±	—	±
142.....	—	—	—	—
143.....	—	—	—	—
145.....	+	+	+	+
249.....	+	+	+	+
284.....	±	—	—	—
383.....	+	+	—	—
473.....	±	—	—	—
1.250.....	+	+	+	+

+ = Atividade antibacteriana total
 ± = Atividade antibacteriana parcial
 — = Ausência de atividade antibacteriana

Os resultados a que chegamos foram os seguintes:

I — Encontramos atividade total somente em seis das doze culturas estudadas (culturas n.º 78, 140, 145, 249, 383 e 1.250).

2 — Quatro amostras apresentaram, apenas, atividade antibacteriana parcial (culturas n.º 25, 141, 284 e 473).

2 — As duas amostras restantes não revelaram atividade antibacteriana (culturas n.º 142 e 143).

Chamamos a atenção para o fato de algumas culturas apresentarem atividade antibacteriana apenas em certo meio; é o caso das culturas ns. 25, 284, 283 e 473 que se mostraram inativas no meio de Raulin & Mosseray, ao passo

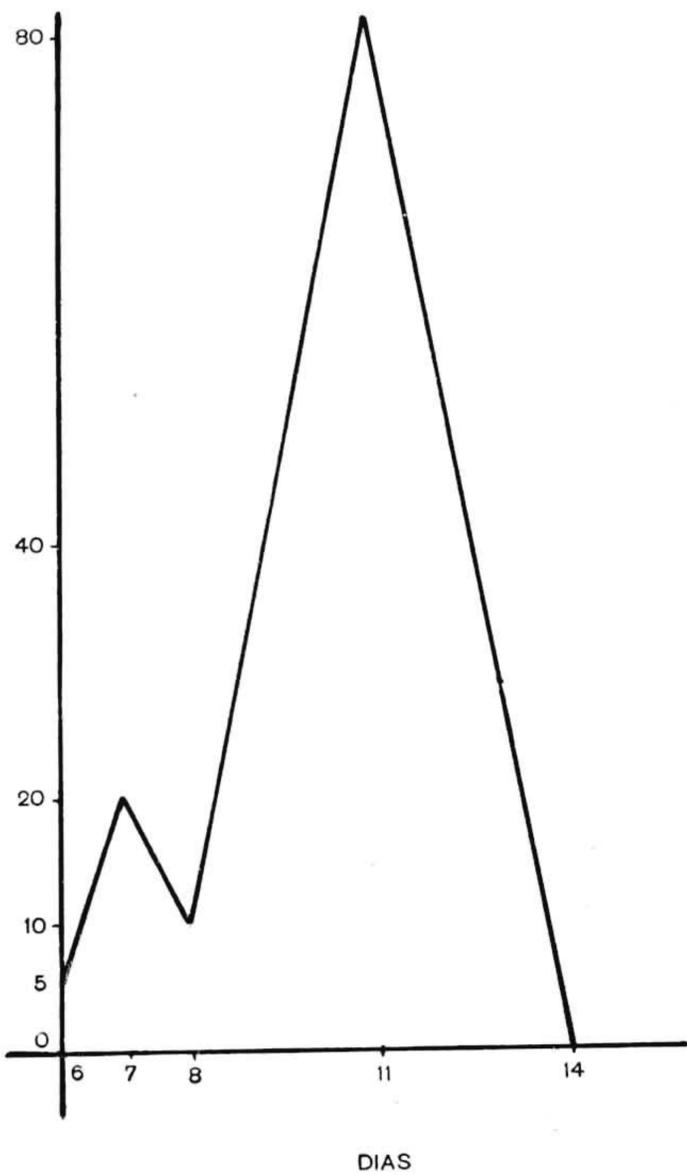


GRÁFICO I — Atividade antibacteriana total das culturas n.º 78 e 383 de *Aspergillus flavus*

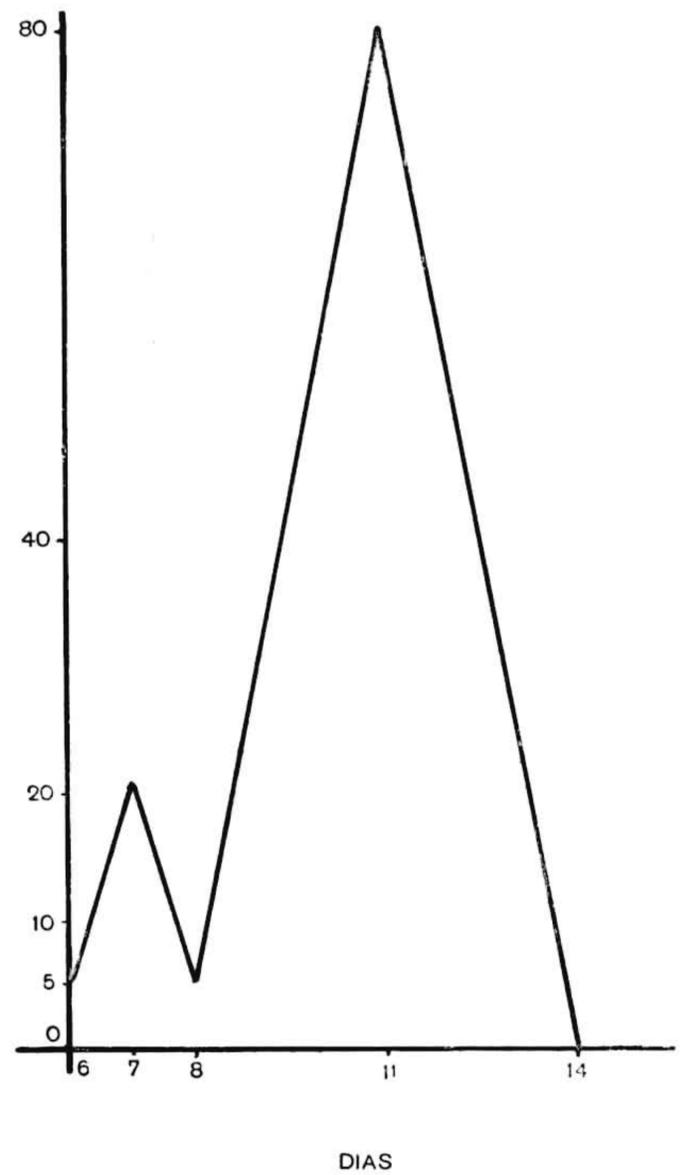


GRÁFICO II — Atividade antibacteriana total da cultura n.º 140 de *Aspergillus flavus*

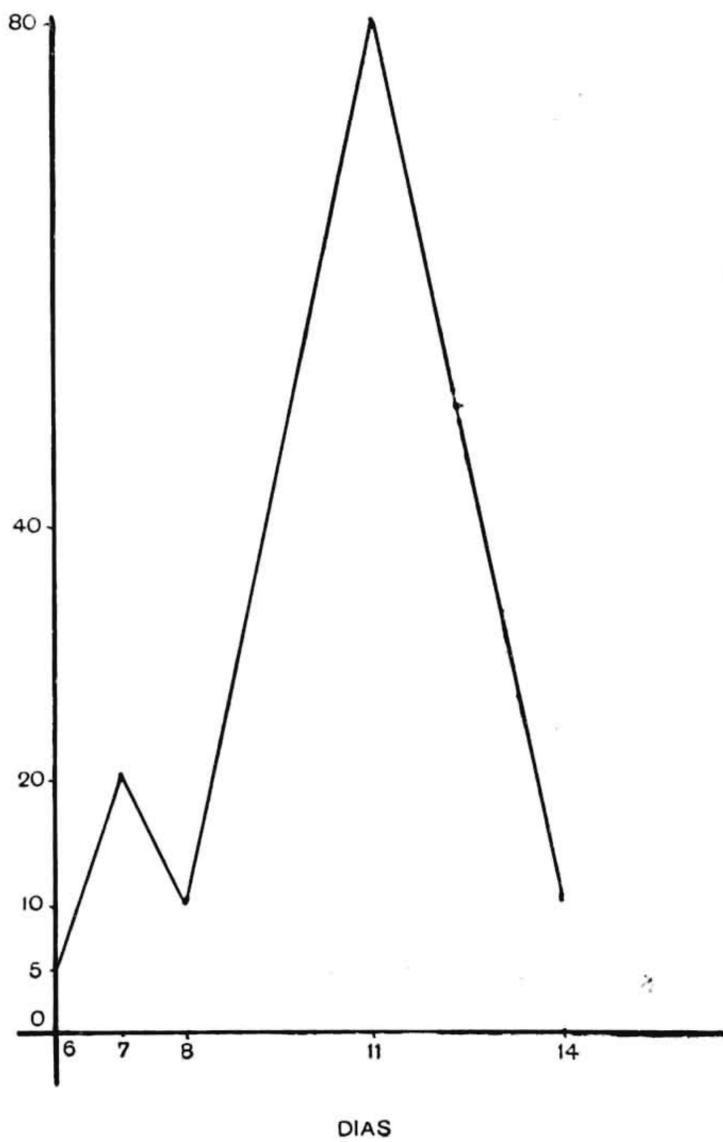


GRÁFICO III — Atividade antibacteriana total da cultura n.º 145 de *Aspergillus flavus*

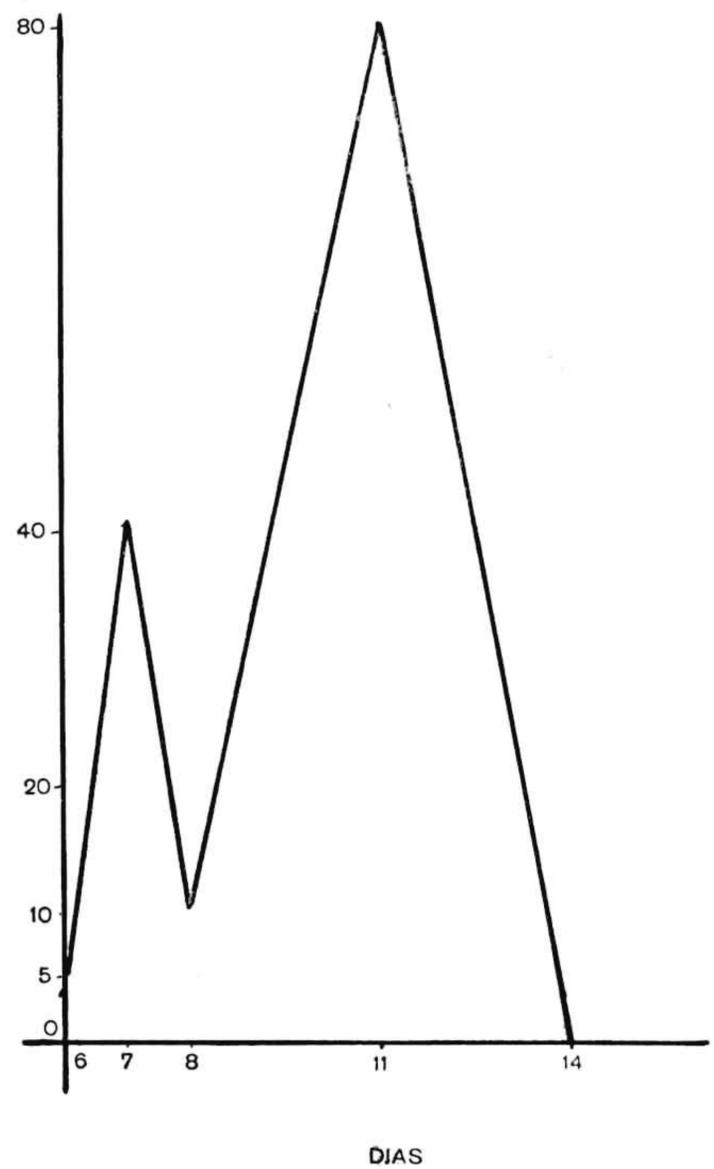


GRÁFICO IV — Atividade antibacteriana total da cultura n.º 149 de *Aspergillus flavus*

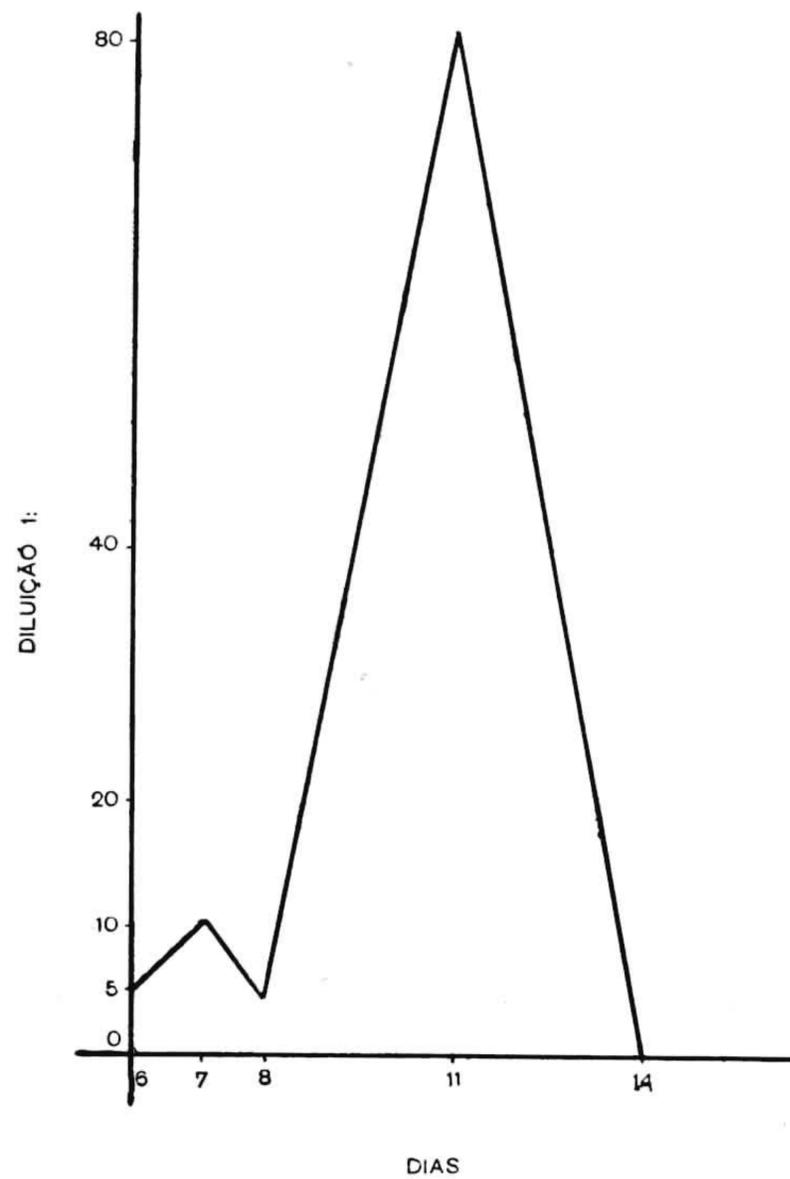


GRÁFICO V

Atividade antibacteriana total da cultura n.º 1.250 de *Aspergillus flavus*

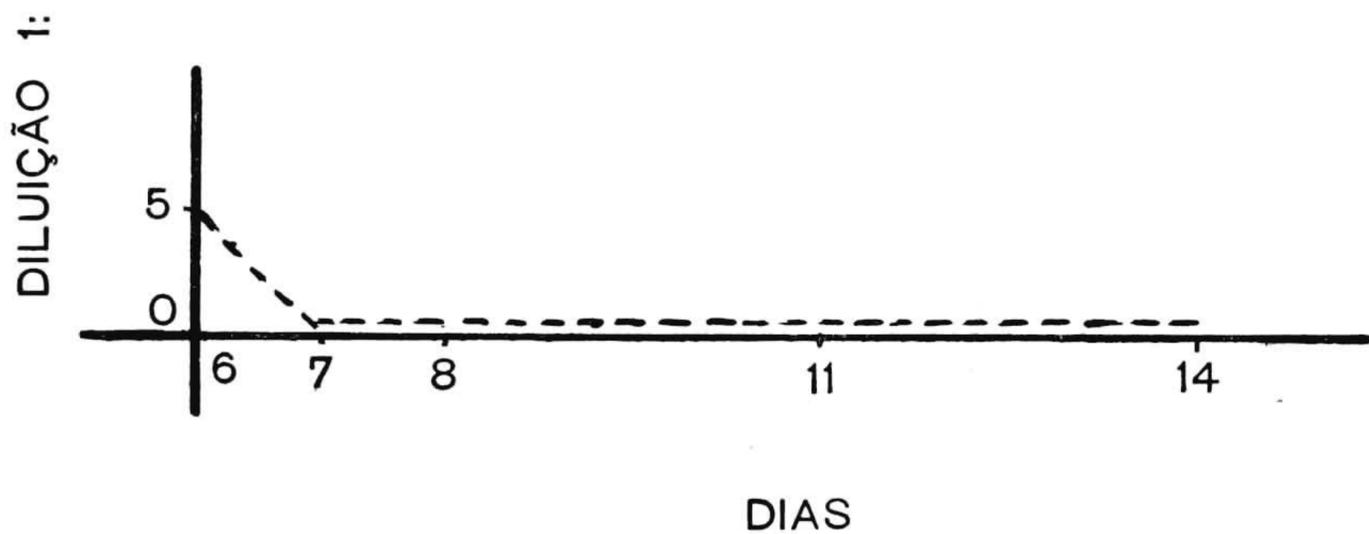


GRÁFICO VI

Atividade antibacteriana parcial das culturas 25 e 284 de *Aspergillus flavus*

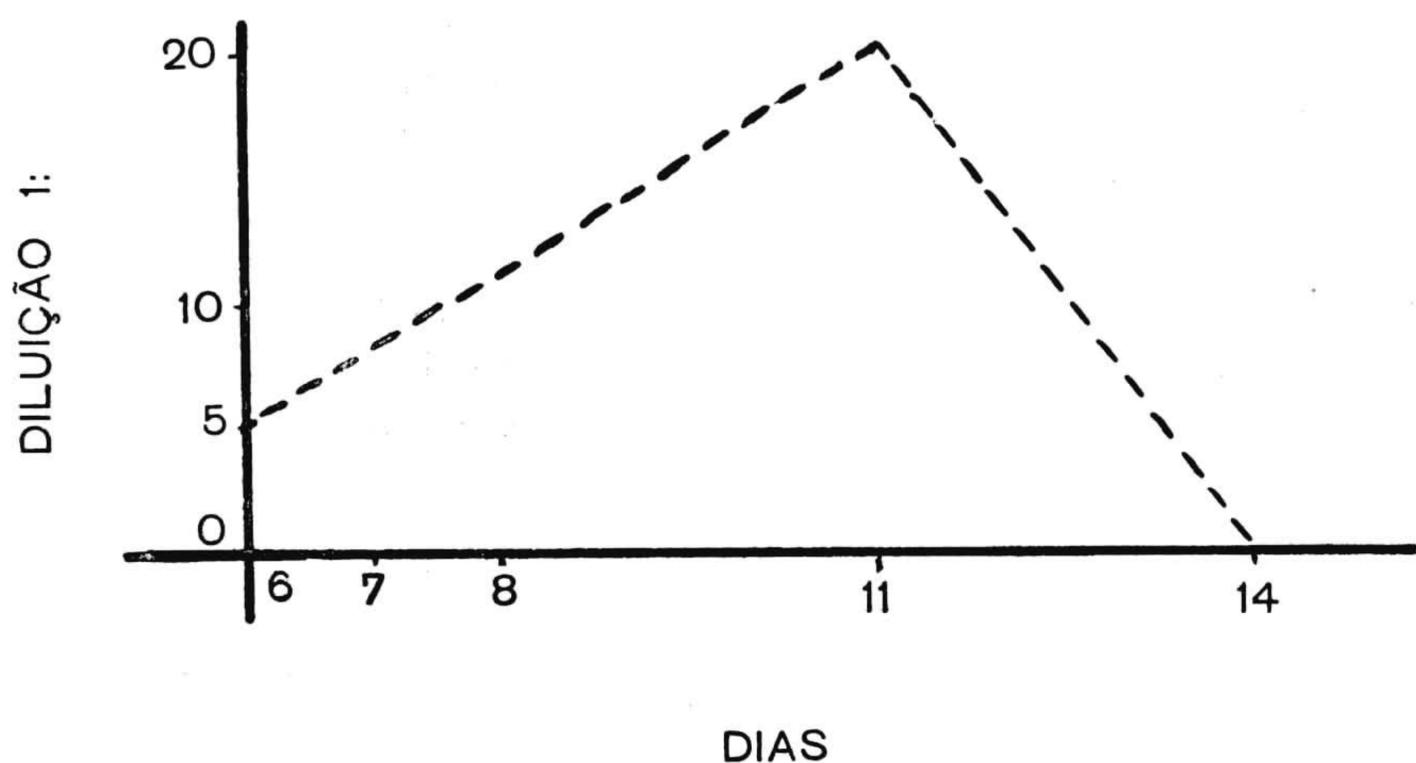


GRÁFICO VII

Atividade antibacteriana parcial da cultura n.º 141 de *Aspergillus flavus*

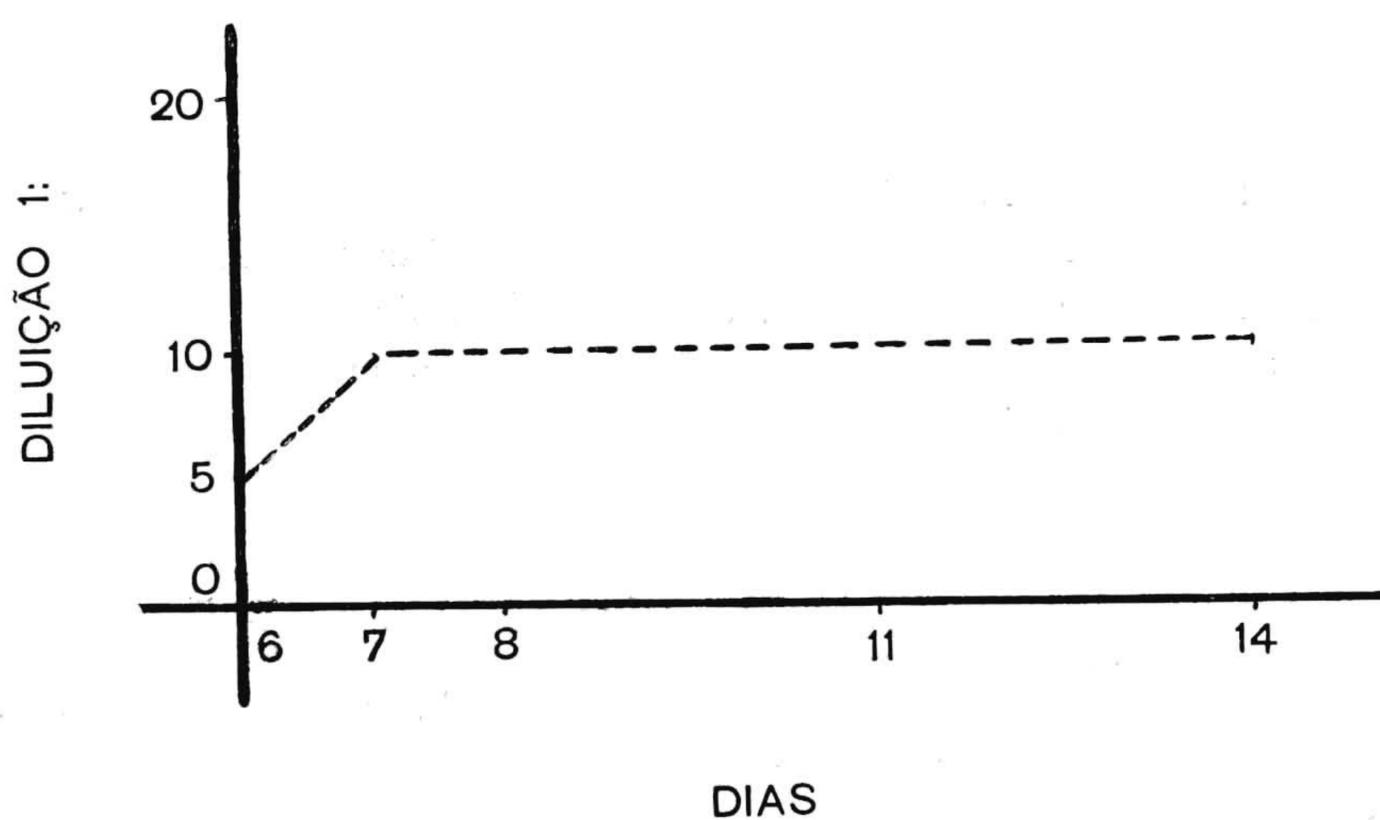


GRÁFICO VIII

Atividade antibacteriana parcial da cultura n.º 473 de *Aspergillus flavus*

que no meio com lêvedo se mostraram com atividade, por vêzes bem alta (cultura n.º 383). Isto nos leva a crer que muitos cogumelos são considerados como desprovidos de atividade antibacteriana, porque ainda não lhes encontramos o meio de cultura adequado.

Outro fato de importância é o tempo de pesquisa. Algumas culturas inativas até o 6.º dia, passavam a apresentar atividade no 12.º dia (culturas números 140 e 141, em meio Raulin). Daí a necessidade de prolongarmos por vários dias a pesquisa, mesmo que se venha apresentando repetidamente negativa.

IV — CONCLUSÕES

— A atividade antibacteriana foi pesquisada entre tôdas as amostras de *Aspergillus flavus* da Seção de Micologia do Instituto Oswaldo Cruz.

— Das doze amostras estudadas, dez apresentaram-se com atividade.

— Na pesquisa da atividade antibacteriana são fatores de importância o meio de cultura e o tempo de verificação.

— Apresentamos nossos sinceros agradecimentos ao Sr. Prof. Dr. ANTONIO EUGENIO ARÊA LEÃO, Chefe da Seção de Micologia do Instituto Oswaldo Cruz, pela orientação e assistência que nos deu na organização de todo êste trabalho e à srta. MARIA DEUSDEDIT ARAUJO FRAGA, estudante de medicina, pela colaboração que nos prestou.

Adolpho da Rocha Furtado.

CONCLUSIONS

— The antibacterial activity of all the strains of *Aspergillus flavus* from the Section of Mycology of the Instituto Oswaldo Cruz was studied.

— From twelve strains studied, ten showed antibacterial activity.

— In a study of antibacterial activity the medium of culture and the time of observation are important.

BIBLIOGRAFIA

BUSH, MILTON T. and GOTH, ANDRES

1943. Flavicin: An antibacterial substance produced by an *Aspergillus flavus*. Jl. Pharm. Exptl. Ther., 78 (2) : 164-169.

FLEMING, ALEXANDER

1929. On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. Brit. Jl. Exptl. Path., 10 (3) : 226-236.

FURTADO, ADOLPHO DA ROCHA

Atividade antibacteriana de 180 amostras de *Aspergillus* — A ser publicado.

GLISTER, G. A.

1941. A new antibacterial agent produced by a mould. *Nature*, 148 : 470.

JONES, HELEN; RAKE, GEOFFREY and HAMRE, DOROTHY M.

1943. Studies on *Aspergillus flavus*. I — Biological properties of crude and purified aspergillic acid. *Jl. Bact.*, 45 (5) : 461-469.

McKEE, CLARA M. and MAC PHILLAMY, HAROLD B.

1943. An antibiotic substance produced by submerged cultivation of *Aspergillus flavus*. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 53 (2) : 247-248).

McKEE, CLARA M.; RAKE, GEOFFREY and HOUCK, CAROL L.

1944. Studies on *Aspergillus flavus*. II — The production and properties of a Penicillin-like substance — Flavacidin. *Jl. Bact.* 47 (2) : 187-197.

MENZEL, ARTHUR E. O., WINTERSTEINER, O. and RAKE, GEOFFREY

1943. Note on antibiotic substances elaborated by an *Aspergillus flavus* strain and by an unclassified mould. *Jl. Bact.*, 46 (1) : 109.

RAKE, GEOFFREY; McKEE, CLARA M. and JONES, HELEN

1942. A rapid test for the activity of certain antibiotic substances. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 51 (2) : 273-274.

VAUDREMER, ALBERT

1910. Action de quelques microbes sur la tuberculine. *Annales de l'Institut Pasteur*, 24 (3) : 189-195.

VAUDREMER, ALBERT

1913. Action de l'extrait filtré d'*Aspergillus fumigatus* sur les bacilles tuberculeux. *Compt. Rendus Soc. Biol.*, 74 : 278-280 e 752-754.

WHITE, EDWIN C.

1940. Bactericidal filtrates from a mold culture. *Science*, 92 : 127.

WHITE, EDWIN C. and HILL, JUSTINA H.

1942. G15 — Antibacterial filtrates from a strain of *Aspergillus flavus*. In. *Jl. Bact.* 43 (1) : 12.

WHITE, EDWIN C. and HILL, JUSTINA H.

1943. Studies on antibacterial products formed by moulds. I — Aspergillic acid, a product of a strain of *Aspergillus flavus*. *Jl. Bact.*, 45 (5) : 433-442.

WILKINS, W. H. and HARRIS, G. C. M.

1942. Investigation into the production of bacteriostatic substances by fungi. I — Preliminary examination of 100 fungal species. *Brit. Jl. Exptl. Path.*, 23 (4) : 166-169.