

39. Franco SCANGA. — **Sull'azione *in vitro* dell'aureomicina su diversi ceppi di Brucelle e di Salmonelle.**

Riassunto. — L'A., dopo aver spiegato le ragioni che lo hanno indotto a compiere tali ricerche, ha saggiato la sensibilità *in vitro* verso l'aureomicina della *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A e B* e della *Brucella melitensis, abortus e suis*. I risultati di queste prove mostrano che le Salmonelle non possiedono un elevato grado di sensibilità verso l'aureomicina e che la loro sensibilità è inferiore a quella delle Brucelle. Fra queste ultime, la *Brucella suis* ed *abortus*, sono più sensibili della *Brucella melitensis*. Una serie di fotografie eseguite con il microscopio elettronico mostra alcuni cambiamenti morfologici determinati dall'aureomicina sui germi.

Résumé. — L'Auteur, après avoir exposé les motifs qui justifient ses recherches, a exécuté une série d'épreuves sur la sensibilité *in vitro* vers l'auréomycine de la *Salmonella typhi*, *paratyphi A. et B.*, et de la *Brucella melitensis, abortus et suis*. Les résultats obtenus démontrent que les Salmonelles, considérées soit séparément, soit dans leur ensemble, révèlent une sensibilité vis-à-vis de l'auréomycine à un degré pas trop élevé, et en tout cas considérablement inférieur à la sensibilité montrée par les Brucelles. Parmi ces dernières, le groupe de la *Brucella suis et abortus* s'est montré beaucoup plus sensible que la *Brucella melitensis*. Une série de photos, exécutées avec le microscope électronique, illustre quelques modifications déterminées par l'auréomycine sur la morphologie des germes.

Summary. — The author after having explained the reasons for which he undertook the present investigations has carried out a number of sensitivity tests *in vitro* to aureomycin of *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A and B*, and *Brucella melitensis, abortus et suis*.

The results show that the Salmonella group does not possess a high sensitivity to aureomycin and their sensitivity is lower than that of the Brucella group. Among the latter, *Brucella suis et abortus*, are much more sensitive than *Brucella melitensis*. A series of photographs made on the electron microscope show some morphological changes of the bacteria brought about by aureomycin.

Zusammenfassung. — Verf. gibt zuerst die Gründe an die ihn zu seiner Arbeit veranlasst haben, und berichtet sodann über eine Versuchsreihe um die Empfindlichkeit « *in vitro* » von *Salmonella typhi, paratyphi, A und B* und *Brucella melitensis, abortus und suis* zu bestimmen. Aus den Ergeb-

nissen geht hervor dass die Gattung Salmonella, sowohl einzeln als insgesamt betrachtet, eine hohe Empfindlichkeit den Aureomycin gegenüber aufweist, die aber jedenfalls geringer als die der Brucella ist. Unter den Brucellaarten sind *Brucella suis* und *Brucella abortus* bedeutend empfindlicher als *Brucella melitensis*. Eine Reihe elektronischer Mikrobilder zeigen einige durch das Aureomycin bewirkte Veränderungen der Morphologie der Keime.

PREMESSA

L'aureomicina (1) occupa, fra i nuovi antibiotici un posto particolare per l'attività che dimostra non solo sui batteri (da 2 a 6), ma anche sui virus e sulle rickettsie (da 7 a 16).

TAB. I

SPETTRO ANTIBIOTICO DELL'AUREOMICINA

Microorganismo	Concentrazione inibente dell'aureomicina (γ , cm ³)				
	Finland (17)	Bryer (18)	Rutemburg (19)	Bliss (20)	Paine (21)
1) Streptococcus haemoliticus .	1	0,3-1,25	—	0,3-1,25	—
2) Staphilococcus aureus . . .	25	0,6	—	0,6	1- 12,5
3) Diplococcus pneumoniae . .	1	0,1-0,3	—	0,1-0,3	0,1-1
4) Neisseria meningitidis . . .	1	0,6-0,8	—	—	0,5
5) Neisseria gonorrhoeae . . .	1	0,6-0,8	—	—	0,25-1
6) Klebsiella pneumoniae . . .	—	1-5	—	1,25-5	6,3-50
7) Haemophilus influenzae . .	—	2	—	2	1-2
8) Pseudomonas aeruginosa . .	100-150	20	0,4 -200	20	100-250
9) Escherichia coli	—	5	0,1 - 25	5	3, 1-100
10) Aerobacter aerogenes . . .	—	—	0,05-200	5	12,5-50
11) Streptococcus faecalis . . .	—	0,3-1-25	—	1,25	6,3
12) Proteus vulgaris	100-250	20	0,01-50	20	125-250
13) Brucella melitensis	—	—	—	—	—
14) » abortus	—	0,75	—	—	—
15) » suis	—	0,75	—	—	—
16) Salmonella typhi	25	—	—	—	3,1-25
17) » paratyphi A	25	—	—	—	—
18) » » B	25	—	—	—	—

Per quanto riguarda i batteri lo spettro antibiotico della aureomicina riveste una notevole importanza perchè la sua azione si estende a un gruppo di microbi gram-negativi, verso i quali finora i sulfamidici, la penicillina e la streptomicina erano risultati poco o per niente attivi. Riportiamo nella Tabella I lo spettro di attività dell'aureomicina secondo i risultati ottenuti da vari AA. americani.

Risulta da queste ricerche che per quanto riguarda il gruppo delle Brucelle e delle Salmonelle, le prove di sensibilità in vitro sono piuttosto scarse.

Per quanto riguarda poi le prove sperimentali sugli animali e le applicazioni in clinica umana, le ricerche sia in America che in Italia sono numerose, ma osserviamo che le ricerche americane interessano quasi esclusivamente il gruppo della *Brucella abortus* e della *Brucella suis* (22, 23, 24, 25), mentre i lavori italiani finora pubblicati (26, 27, 28), trattano l'argomento solo dal lato clinico. Ed infatti, in occasione di due recenti Comunicazioni tenute all'Accademia Medica di Roma sul tema «Aureomicina e brucellosi», è stata avanzata l'ipotesi, senza che fosse possibile confermarla sperimentalmente, che i differenti risultati clinici ottenuti fossero probabilmente da imputare a diversa sensibilità delle Brucelle, in rapporto non solo alla specie ma anche al ceppo.

Nel campo delle infezioni da Salmonelle soprattutto per quanto riguarda la febbre tifoide, successi terapeutici finora conseguiti in clinica (28), meritano un'estensione dello studio dal lato microbiologico.

Ci siamo pertanto proposti di compiere una serie di ricerche in vitro, sulla sensibilità verso l'aureomicina della *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A e B* e della *Brucella melitensis*, *Brucella abortus* e *Brucella suis* paragonando i risultati ottenuti sia fra i diversi generi, sia fra le diverse specie. Questo non solo per stabilire la premessa microbiologica per un eventuale impiego dell'aureomicina nelle infezioni da Salmonelle, ma anche per stabilire la differente attività terapeutica dell'antibiotico nei tre tipi di brucellosi umana.

PARTE SPERIMENTALE.

Sono stati studiati 27 ceppi di Salmonelle e di Brucelle, alcuni provenienti dalla collezione del nostro Istituto, altri gentilmente forniti dal Prof. Rita dell'Istituto di Microbiologia dell'Università di Roma.

Le prove della sensibilità sono state eseguite su terreno solido, con la tecnica dell'agar-germi con pozzetto, adoperando brodoculture di 24 h. per le Salmonelle e di 48 h. per le Brucelle. La carica batterica, per l'agar-germi, era differente: una serie di piastre veniva preparata con $\text{cm}^3 0,1$ di brodocultura per 20 cm^3 di agar e una serie con 1 cm^3 . Abbiamo ritenuto

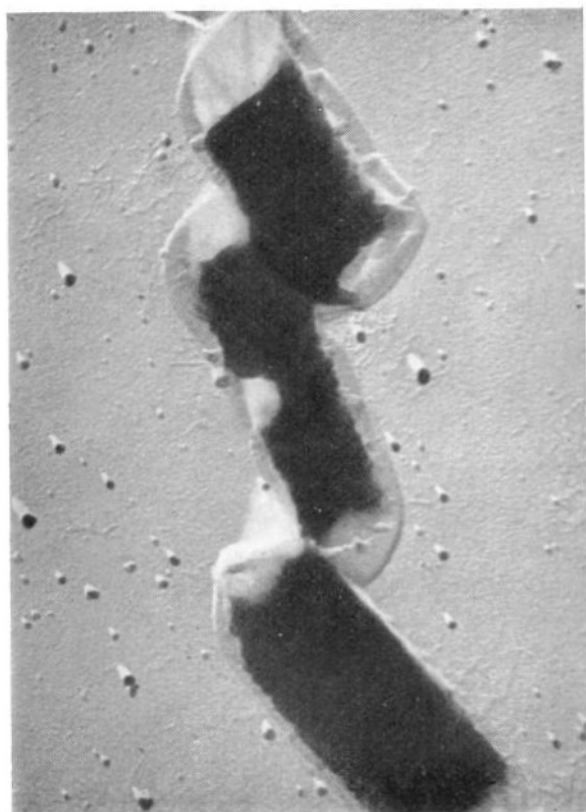


Fig. 1. - *Salmonella typhi*. Si rilevi nel protoplasma nettamente distaccato dalla membrana cellulare la presenza di erosioni a forma di semiluna (immagine negativa) ($\times 18.000$).

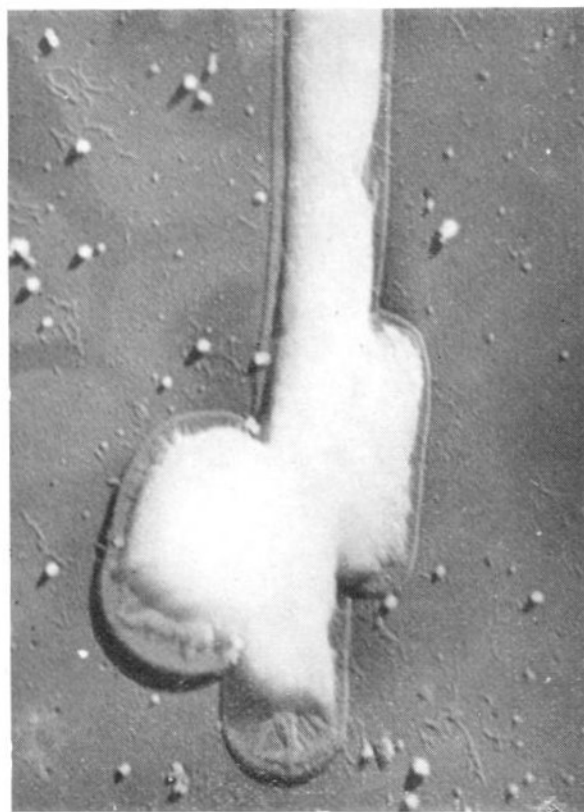
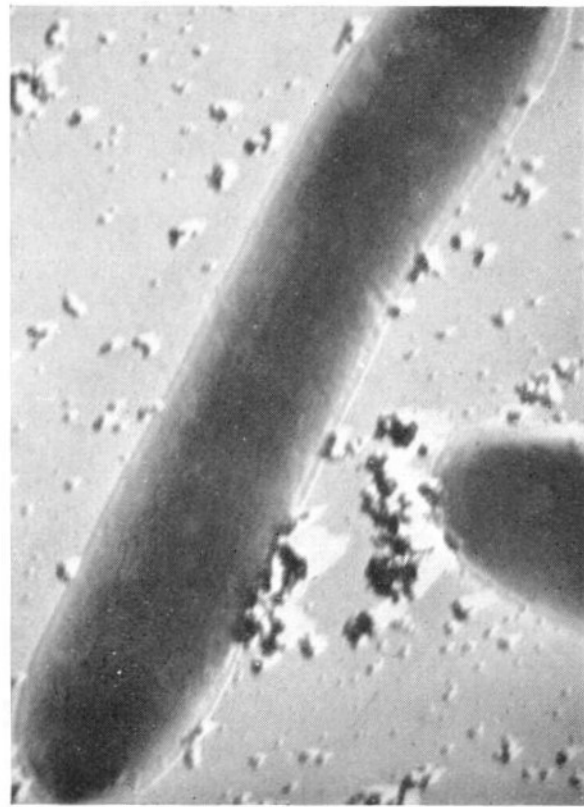
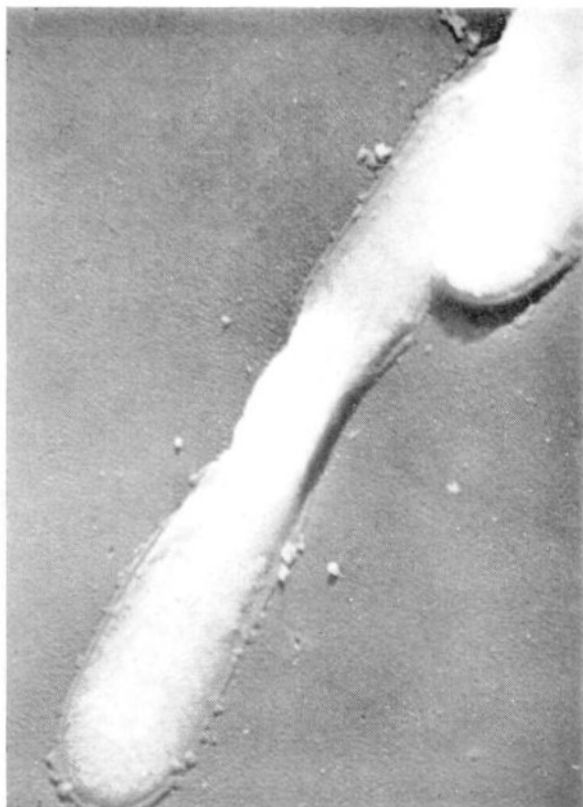
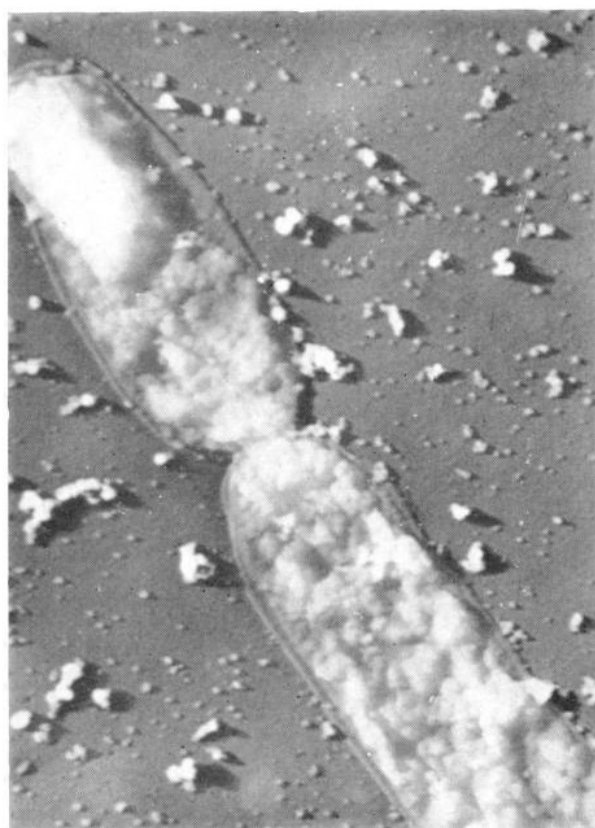
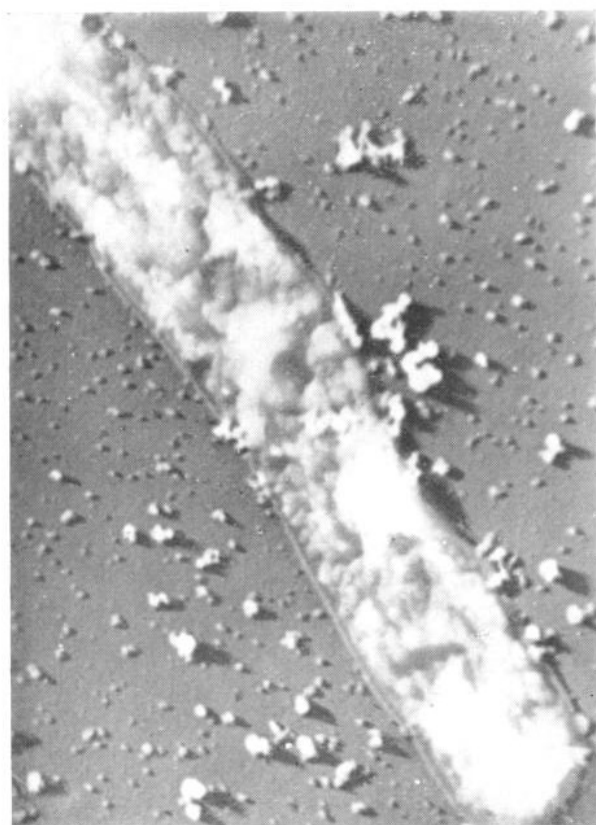


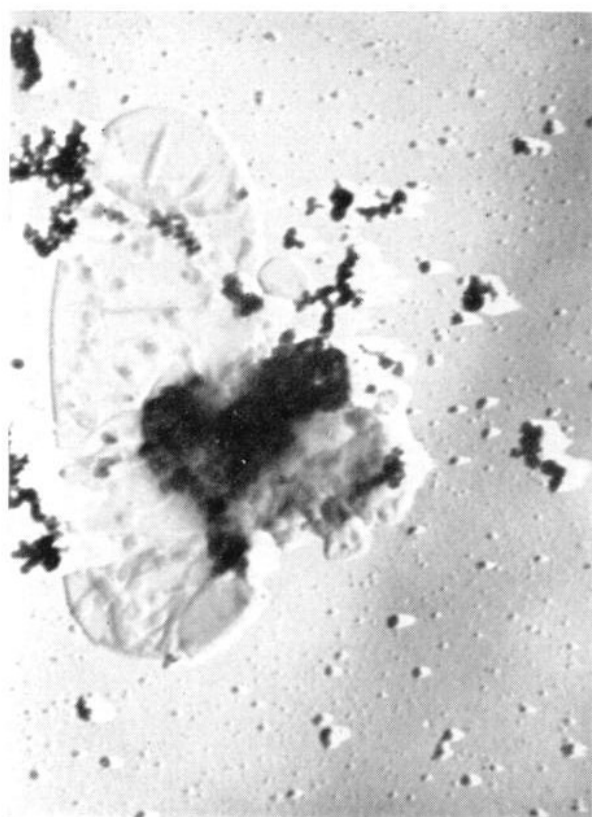
Fig. 2. - *Salmonella typhi*. Accanto a due cellule batteriche, di dimensioni normali, si osserva un elemento allungato, che non entra neanche nel campo di osservazione microscopica (immagine positiva) ($\times 18.000$).



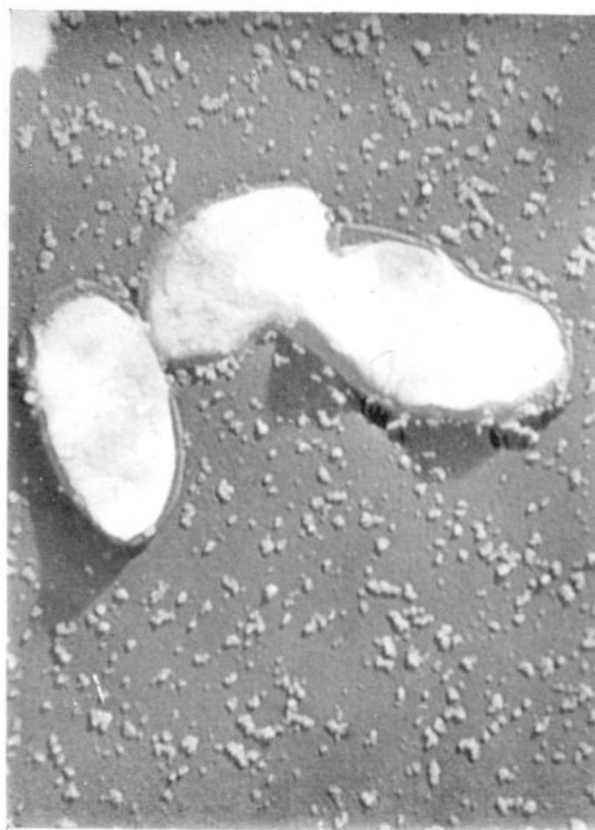
Figg. 3 e 4. - *Salmonella typhi*. Si osservano elementi allungati ed in qualcuno (fig. 3) si rileva al centro del corpo cellulare una maggiore compattezza del protoplasma (immagine positiva, fig. 3 e negativa, fig. 4).



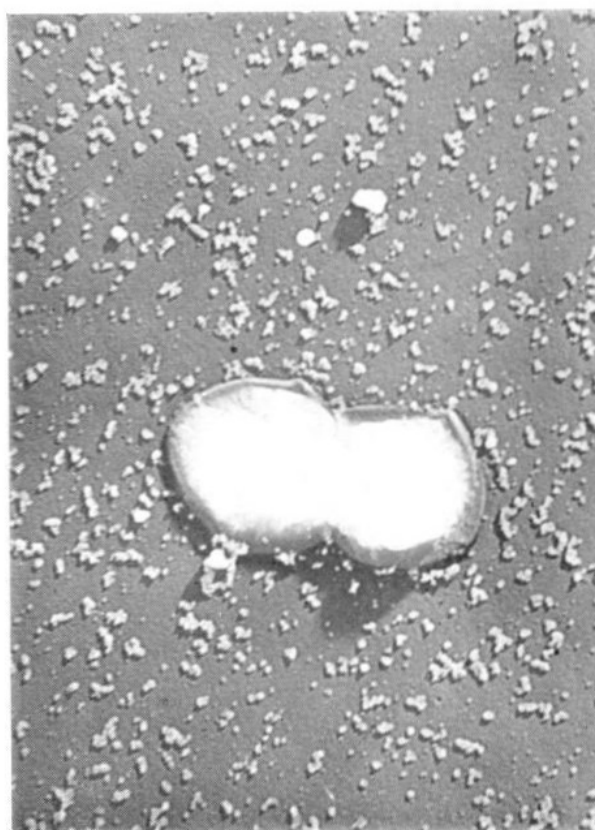
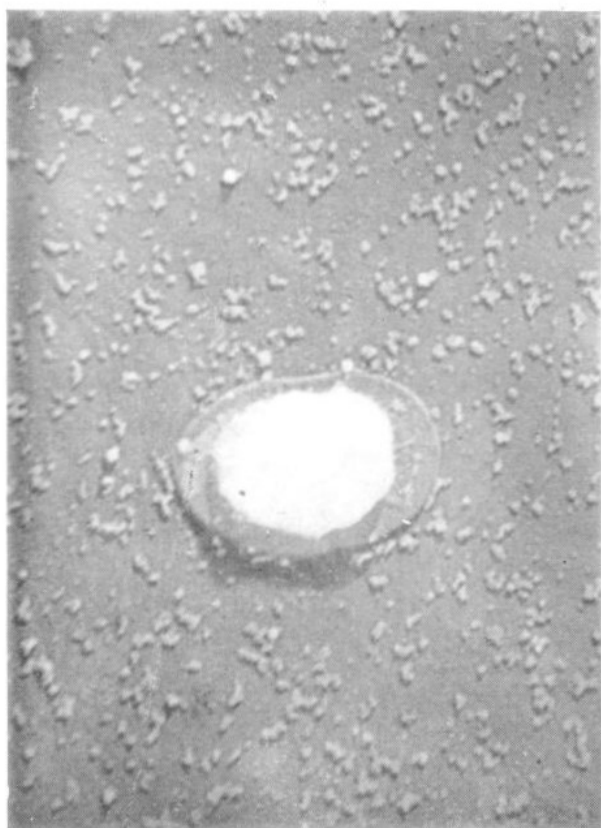
Figg. 5 e 6. - *Salmonella typhi*. Concentrazioni maggiori di aureomicina fanno assumere al protoplasma un aspetto granuloso, con addensamento ad un estremo del corpo cellulare (immagini positive).



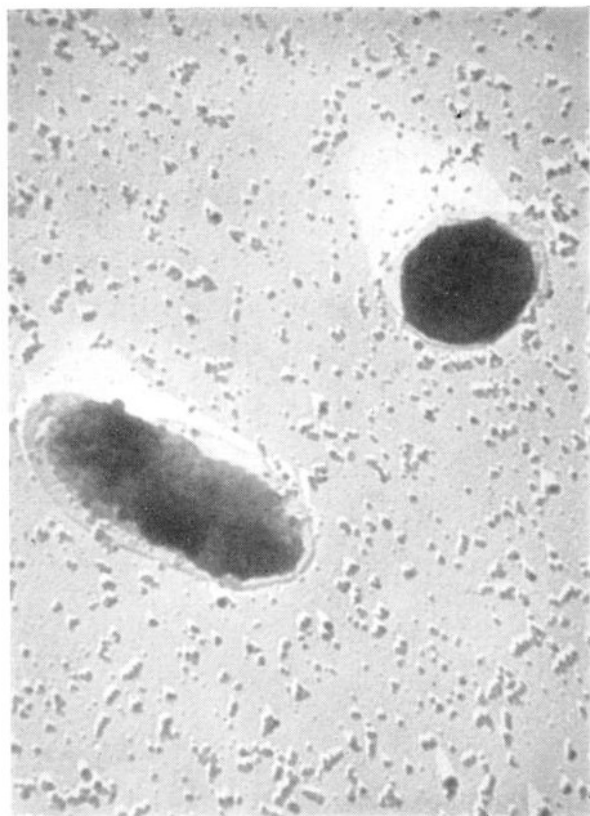
Figg. 7 e 8. - *Salmonella typhi*. L'antibiotico ha determinato quasi una vera e propria lisi della cellula batterica: nella fig. 7 si osserva solo la membrana cellulare (immagine negativa) e nella fig. 8 si rileva il disfacimento completo dell'organismo (immagine positiva).



Figg. 9 e 10. - *Escherichia coli*. Le cellule batteriche appaiono leggermente ingrossate e con piccole deformazioni del contorno cellulare (immagini positive).



Figg. 11 e 12. - *Escherichia coli*. Trasformazione della forma allungata in quella rotondeggiante, coccoide, rilevabile sia nella fig. 11 che nella fig. 12, che mostra l'elemento cellulare nella sua fase di divisione (immagini positive).



Figg. 13 e 14. - *Escherichia coli*. Nello stesso campo di osservazione sono visibili elementi che conservano la forma allungata ed elementi a palla (immagini negative).

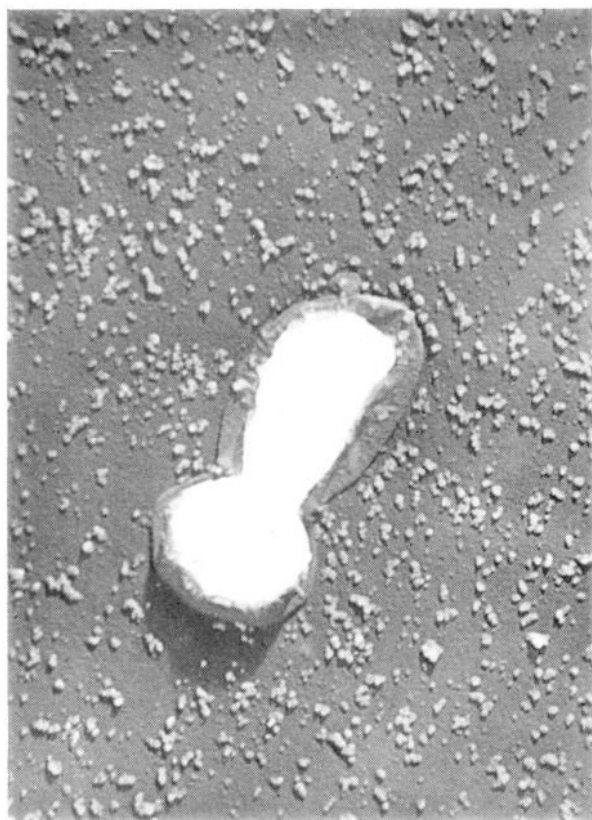


Fig. 15. - *Escherichia coli*. Le due formazioni (a palla ed allungate) sono così ravvicinate fra loro da dare l'impressione di una possibile divisione cellulare atipica (immagine positiva).

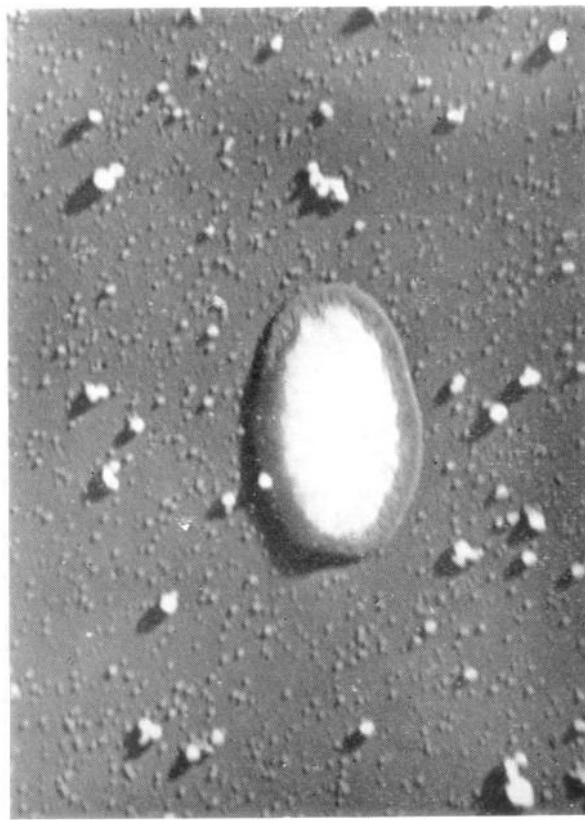


Fig. 16. - *Brucella melitensis*. Elemento normale (immagine positiva).

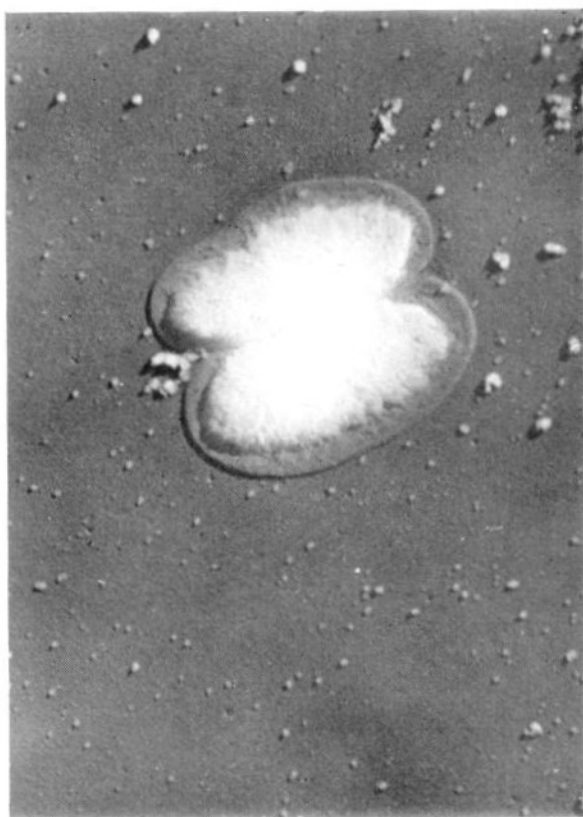


Fig. 17. - *Brucella melitensis*. Due elementi normali affiancati (immagine positiva).



Fig. 18. - *Brucella melitensis*. Per azione dell'aureomicina gli elementi bacillari perdono il carattere regolare del contorno cellulare (immagine positiva).



Fig. 19. - *Brucella melitensis*. Accanto alle alterazioni del contorno cellulare si rileva anche un discreto allungamento del corpo microbico (immagine positiva).



Fig. 20. - *Brucella melitensis*. Come nell'*E. coli*, anche in questo caso si osservano forme coccoidi (immagine positiva).

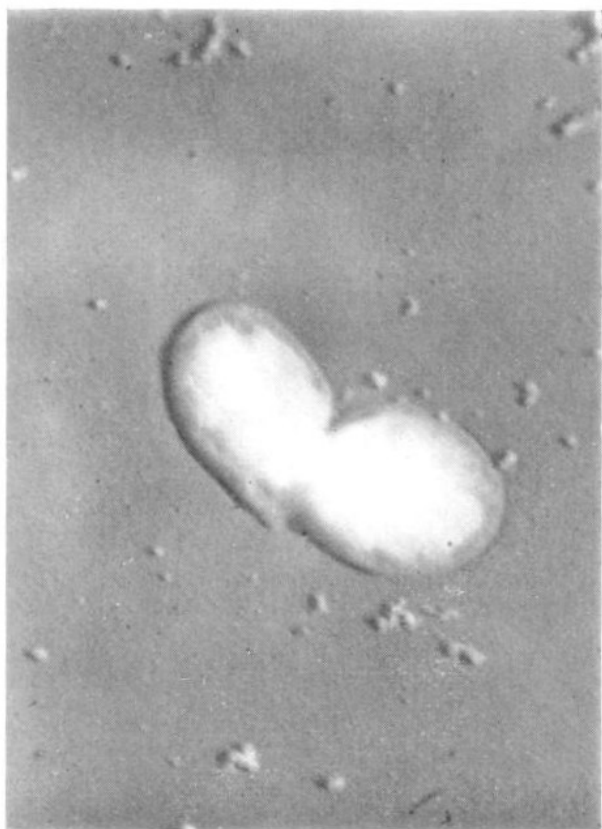


Fig. 21. - *Brucella melitensis*. Elemento cellulare, nella sua forma coccoide, in fase di divisione (immagine positiva).



Fig. 22. - *Brucella melitensis*. Come nell'*E. coli* (fig. 15) sembra di osservare una atipia nel processo della divisione cellulare (immagine positiva).

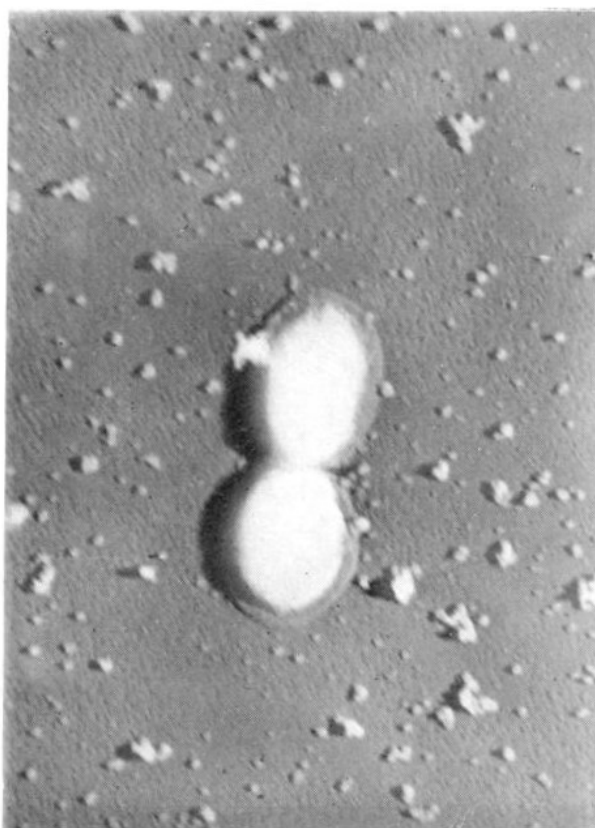
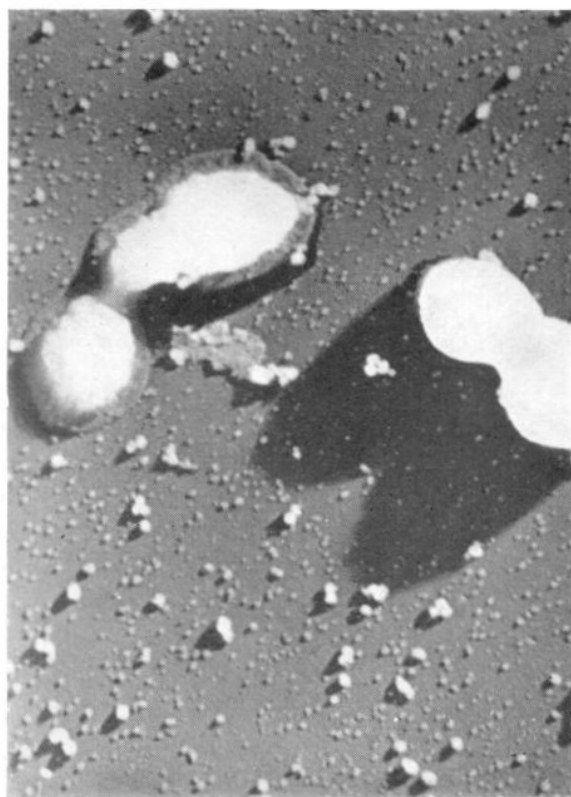
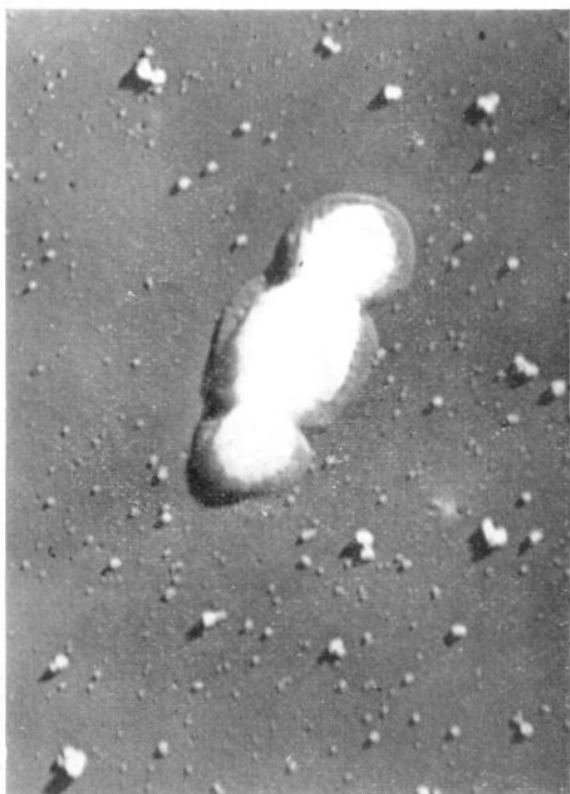


Fig. 23. - *Brucella melitensis*, ceppo Allemandi. Tale ceppo, dissimile dal precedente, ha normalmente una forma rotondeggiante (immagine positiva).



Figg. 24 e 25. - *Brucella melitensis*, ceppo Allemandi. La divisione batterica avviene in maniera atipica: ai due estremi del corpo cellulare (fig. 24) o ad un estremo (fig. 25) (immagini positive).

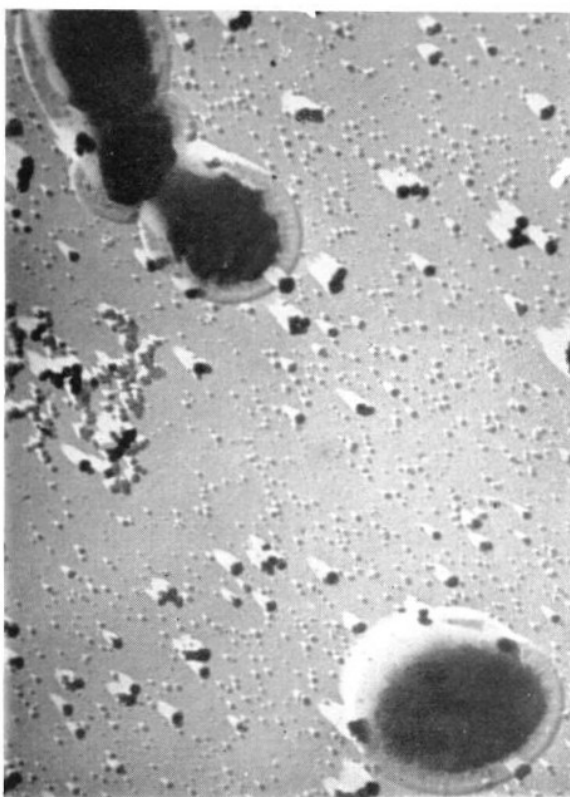


Fig. 26. - *Brucella melitensis*, ceppo Allemandi. La divisione della cellula avviene in due punti successivi (immagine negativa).



Fig. 27. - *Brucella melitensis*, ceppo Allemandi. Batteriolisi parziale (immagine positiva).

opportuno seminare l'agar con cariche batteriche differenti, in base alla osservazione che la sensibilità di un microrganismo verso l'aureomicina è più o meno notevolmente influenzata dalla differente concentrazione dei germi. Ed infatti questa osservazione trova piena conferma nelle nostre prove, per cui riteniamo che di tale fatto si debba tener conto qualora si voglia indagare il meccanismo con cui l'aureomicina agisce.

TAB. II

Concentrazione dell'aureomicina (γ/cm^3)	100		10		1		0,1	
Concentrazione dei germi in 20 cm^3 di agar	0,1 cm^3	1 cm^3	0,1 cm^3	1 cm^3	0,1 cm^3	1 cm^3	0, cm^3	1 cm^3
1) S. typhi Trento	0,7	0,7	0,5	0,5	0,3	0,3	0	0
2) S. typhi Vi Bucarest	1,0	0,9	0,9	0,7	0,5	0,4	0	0
3) S. typhi O 901	1,1	1,0	1,0	0,9	0,5	0	0	0
4) S. typhi H 901	0,6	0,5	0,4	0,4	0	0	0	0
5) S. typhi Giacomello	0,7	0,5	0,5	0,4	0	0	0	0
6) S. paratyphi A-I.S.P.	1,4	1,2	1,0	1,0	1,0	0,8	0,2	0
7) S. paratyphi A Catania	1,3	0,8	1,0	0,7	0,6	0,5	0	0
8) S. paratyphi A Pasteur	0,8	0,7	0,5	0,5	0	0	0	0
9) S. paratyphi A Igiene	1,1	0,5	1,0	0,5	0	0	0	0
10) S. paratyphi B	1,1	0,5	1,0	0,5	0	0	0	0
11) S. paratyphi B Pasteur	0,6	0,5	0,6	0,4	0	0	0	0
12) S. paratyphi B Ostetrica	0,4	0,4	0,3	0	0	0	0	0
13) S. paratyphi B Pesenti	0,6	0,3	0,5	0,2	0	0	0	0
14) Br. melitensis A.	1,5	1,4	1,2	1,1	0,7	0,6	0,2	0
15) Br. melitensis Alleman.	1,9	1,4	1,3	1,1	0,6	0,5	0,6	0,4
16) Br. melitensis S. F. 19	1,7	1,4	1,3	1,2	0,4	0,4	0,4	0,4
17) Br. melitensis S. F. 5	1,9	1,5	1,5	1,2	0,8	0,6	0,8	0,6
18) Br. melitensis S. F. 40	1,7	1,4	1,5	1,2	0,8	0,5	0,8	0,5
19) Br. abortus Ubertini	2,7	1,7	1,5	1,2	1,1	0,4	0	0
20) Br. abortus 19	2,7	2,3	2,1	1,8	1,3	1,2	0,9	0,8
21) Br. abortus Giaveno	2,1	1,7	1,8	1,3	0,8	0,8	0,8	0,7
22) Br. abortus Arcozei	2,4	1,8	1,8	1,3	0,9	0,6	0,8	0,5
23) Br. abortus Bang	4,2	3,1	3,6	2,2	2,1	1,8	1,9	0,9
24) Br. abortus K R 16	2,4	1,6	1,4	1,3	1,6	0,9	1,6	0,6
25) Br. abortus Bonetti	2,5	1,5	1,3	1,2	1,5	1,0	1,2	0,5
26) Br. abortus Kobek	3,5	2,7	2,7	2,2	1,7	1,4	1,3	1,1
27) Br. suis III ⁰	3,9	2,9	2,9	2,5	1,7	1,6	1,4	1,1

Dopo aver preparato le varie piastre di agar-germi, sono stati praticati con un foratappi, in ciascuna piastra quattro fori, secondo la usuale tecnica, da noi descritta in altri lavori (29-30), così da ottenere quattro pozzetti per ogni piastra. In ciascun pozzetto di ogni piastra è stata posta la soluzione di aureomicina (cm^3 0,05), in maniera di avere all'interno di ogni pozzetto 0,1 - 1 - 10 e 100 γ di antibiotico.

Le piastre con le Salmonelle sono state tenute in termostato 24 h., quelle con le Brucelle 48 h. Dopo di che abbiamo misurato ogni alone di inibizione ottenuto: per ogni ceppo la prova è stata ripetuta tre volte; nella tabella II è riportata la media dei valori da noi trovati. Nel valutare il diametro dell'alone di inibizione, poichè ogni pozzetto in cui è stata posta l'aureomicina misura un diametro di 8 mm. abbiamo sottratto, per ogni valore trovato, dal diametro complessivo dell'alone, quello corrispondente a ciascun pozzetto (mm. 8). Pertanto i valori da noi indicati nelle tabelle si riferiscono al diametro totale dell'alone, sottratto del diametro del pozzetto.

Confrontando, fra loro i vari risultati ottenuti, si rileva anzitutto che il gruppo delle Salmonelle, considerate sia globalmente che singolarmente rivelano una sensibilità in vitro verso l'aureomicina notevolmente inferiore a quella delle Brucelle. Con un solo ceppo, il Paratifo A - I.S.P. si è riusciti ad ottenere con 0,1 di aureomicina un alone ancora misurabile (cm 0,2) e soltanto con carica batterica piccola (cm³ 0,1/20 cm³ di agar).

TAB. III

DIAMETRO DEGLI ALONI DI INIBIZIONE (MEDIA DEI VALORI MEDI)

Concentrazione aureomicina (γ /cm ³)	100		10		1		0,1	
Carica batterica	0,1	1	0,1	1	0,1	1	0,1	1
Sal. thyphi	0,82	0,72	0,66	0,58	0,26	0,14		
Sal. parathyphi A	1,15	0,80	0,87	0,67	0,40	0,32	0,05	
Sal. parathyphi B	0,67	0,42	0,60	0,27				
Media generale delle Salmonelle	0,88	0,64	0,71	0,50	0,22	0,15	0,016	
Br. melitensis	1,74	1,42	1,36	1,16	0,66	0,52	0,56	0,38
Br. abortus	2,82	2,05	2,02	1,56	1,37	1,01	1,06	0,63
Br. suis	3,90	2,90	2,50	2,50	1,70	1,60	1,45	1,10
Media generale delle Brucelle	2,82	2,12	2,09	1,74	1,24	1,04	1,02	0,67

Nessun altro dei 13 ceppi esaminati si è dimostrato sensibile a tale concentrazione dell'antibiotico.

Nel campo delle Brucelle invece, un solo ceppo (n. 19) si è dimostrato insensibile a 0,1 di aureomicina con carica batterica sia piccola (0,1 cm³) che grande (1 cm³), mentre il ceppo n. 14 è risultato insensibile solo con carica batterica grande; gli altri 12 ceppi hanno rivelato una certa sensibilità dando degli aloni che in alcuni casi sono arrivati a misurare cm 1,9.

Con la concentrazione di 1 γ di aureomicina per cm³, 5 ceppi di Salmonelle, su 13, hanno dato un alone di inibizione usando la carica batterica piccola, e soltanto 4 usando la carica batterica maggiore. Nel campo delle Brucelle invece tutti i ceppi sono risultati sensibili ad 1 μ ottenendosi aloni massimi di cm. 2,1, mentre con le Salmonelle non si sono riscontrati valori superiori ad 1.

Con la concentrazione di 10 γ di aureomicina per cm³, anche tutti i ceppi di Salmonelle, tranne il n. 12 sono risultati sensibili, non ottenendosi però aloni di inibizione superiori a cm. 1. Le Brucelle invece hanno dato tutte aloni piuttosto estesi con diametri fino a cm 3,6. Tale differenza nella sensibilità dei due gruppi di microrganismi si mantiene anche adoperando concentrazioni di aureomicina maggiori (100/cm³). Tali differenze si rilevano ancora meglio nella tabella III, nella quale abbiamo riportato la media dei valori medi trovati per ciascun gruppo di germi.

Fra le Salmonelle, la più sensibile appare la *S. paratyphi A*, la meno sensibile è la *S. typhi*. Nel gruppo delle Brucelle, la sensibilità decresce sensibilmente dalla *Br. suis* alla *Br. abortus*, e da questa alla *Br. melitensis*, che appare la meno sensibile di tutte, pur mantenendosi ad un livello di sensibilità superiore a quello delle Salmonelle. La sensibilità massima nel gruppo delle Brucelle è circa quattro volte maggiore della sensibilità massima del gruppo delle Salmonelle (*Br. suis* = 3,9; *S. paratyphi A* = 1,15). Così pure la media generale della sensibilità delle Brucelle (2,82) è corrispondente a circa tre volte quella delle Salmonelle (0,88).

Altro particolare da far rilevare è, come abbiamo precedentemente accennato, l'influenza della carica batterica sulla sensibilità verso l'aureomicina. Tale influenza la si osserva sia con le Salmonelle che con le Brucelle tanto adoperando concentrazioni basse che elevate di antibiotico. In alcuni casi si è arrivati a constatare che il grado di sensibilità osservato, con una data concentrazione di aureomicina (p. es. 10 γ cm³) e con carica batterica forte (1 cm³/20 cm³ di agar) è uguale o anche inferiore al grado di sensibilità constatato con una concentrazione minore di antibiotico (1 γ /cm³) e con carica batterica bassa (0,1 cm³/20 cm³ di agar). Tali risultati ci consentono di formulare queste considerazioni:

a) le Salmonelle, sia singolarmente che complessivamente considerate, dimostrano una sensibilità verso l'aureomicina, non di grado elevato, comunque notevolmente inferiore alla sensibilità dimostrata dalle Brucelle. Soprattutto è importante far rilevare — ai fini dell'utilizzazione clinica di questo antibiotico — che concentrazioni di $1 \gamma/\text{cm}^3$ difficilmente riescono ad esplicare azione batteriostatica sulla maggior parte delle Salmonelle, anche adoperando cariche batteriche minime. Tale dato acquista ancora più importanza, se si considera che l'attività antibatterica dell'aureomicina è parzialmente inibita dal siero di sangue: infatti per ottenere un'azione antibatterica in presenza di 50% di siero, occorrono concentrazioni di antibiotico 5 volte superiori a quella necessaria per ottenere lo stesso effetto in brodo senza siero;

b) la sensibilità delle Brucelle è, nell'insieme, sensibilmente maggiore a quella delle Salmonelle. Ma il fatto più importante da far rilevare è la maggiore sensibilità dimostrata dalla *Brucella suis ed abortus*, in confronto alla *Brucella melitensis*.

Tale differenza è da tenere soprattutto presente, considerando che, al contrario di quanto succede in America, l'infezione brucellare in Italia, è prevalentemente dovuta alla *Br. melitensis*, cioè alla specie che risulta meno sensibile delle altre due all'antibiotico.

* * *

Abbiamo creduto interessante completare queste nostre ricerche sulla azione in vitro dell'aureomicina, studiando al microscopio elettronico quali modifiche tale sostanza determina sulla morfologia dei germi. I microrganismi da noi presi in esame sono stati: un ceppo di *Salmonella typhi* (O 901), un ceppo di *Escherichia coli* e due ceppi di *Brucella melitensis*, provenienti tutti dalla Collezione del nostro Istituto.

Tali germi, sono stati coltivati per 24 ore (tifo e coli) o per 48 ore (brucelle); dopo di che sono state aggiunte ad ogni cultura quantità variabili di aureomicina (da 0,1 a $10 \gamma/\text{cm}^3$), tenendo ancora tutto in termostato per altre 18 ore.

Abbiamo quindi allestito per ogni germe i preparati per l'osservazione elettronica, secondo l'abituale tecnica, da noi descritta in precedenti lavori (31-32).

SALMONELLA TYPHI (ceppo O 901).

Tale ceppo è già stato da noi precedentemente osservato al microscopio elettronico (33); pertanto per quanto riguarda l'aspetto morfologico degli

elementi provenienti da una brodocultura normale di 48 ore (controllo), rimandiamo alle fig. 10, 11 e 12 del sopracitato lavoro (33). In esse i microrganismi rivelano un aspetto allungato, con protoplasma batterico in genere distaccato dalla membrana cellulare, abbastanza visibile e con addensamenti localizzati prevalentemente ad uno degli estremi del corpo batterico.

Le modifiche determinate dall'aureomicina sulla morfologia del bacillo del tifo, sono variabili, in rapporto alla concentrazione dell'antibiotico nel liquido culturale.

Con concentrazioni di $\gamma 0,1/\text{cm}^3$ non si riscontrano modifiche sostanziali: la fig. 1 (immagine negativa) mostra elementi in cui c'è semplicemente da rimarcare in confronto ai controlli la coartazione del protoplasma più marcata e con qualche erosione a forma di semiluna, che si addentra abbastanza profondamente nella massa protoplasmatica. La fig. 2 (immagine positiva) mostra, accanto a due elementi di dimensioni normali, una forma microbica così allungata, da non entrare nel campo di osservazione microscopica. Tale aspetto si rende ancora più evidente nelle fig. 3 (immagine positiva) e 4 (immagine negativa). La fig. 3 mostra anche, al centro del corpo batterico, il protoplasma più compatto e perfettamente aderente alla membrana cellulare, si da risultare una specie di strozzamento, in corrispondenza del quale il corpo batterico appare più in rilievo della restante parte cellulare.

Adoperando concentrazioni maggiori di aureomicina ($\gamma 10/\text{cc}$) l'aspetto morfologico cambia sensibilmente: il protoplasma si schiarisce ed assume un aspetto granuloso (figg. 5, 6, immagini positive) con qualche addensamento maggiore situato, come al solito ad uno degli estremi del corpo batterico. Nella fig. 7 (immagine negativa) il protoplasma microbico è quasi completamente scomparso, residuando qualche granulino appena visibile all'interno della membrana cellulare; la fig. 8 (immagine positiva) offre il quadro di una vera e propria bacteriolisi, con persistenza, in mezzo ai detriti cellulari, di una massa protoplasmatica di aspetto cocciforme, discretamente compatta e rilevata.

E. COLI (ceppo 2 B).

Anche questo ceppo è stato da noi precedentemente osservato al microscopio elettronico (33) e perciò per quanto riguarda l'aspetto morfologico degli elementi provenienti da brodoculture normali di 42 ore, rimandiamo alle fig. 19 e 20 dello stesso lavoro.

La concentrazione di aureomicina da noi adoperata in questa prova è stata di $10 \gamma/\text{cm}^3$; le modifiche morfologiche riscontrate sono essenzialmente di due tipi:

a) deformazione appena evidenziabile del contorno del corpo cellulare, che però conserva il suo normale aspetto allungato, di tipo bacillare (fig. 9 e 10, immagini positive);

b) trasformazione della forma allungata in una rotondeggiante, coccoide, evidente non solo nella fig. 11 (immagine positiva) ma anche nella fig. 12 (immagine positiva), dove l'elemento cellulare si mostra in divisione iniziale.

Tale duplice aspetto delle modifiche è ancora meglio evidenziabile nelle fig. 13 e 14 (immagini negative) in cui si vedono rappresentate, nello stesso campo di osservazione, elementi del primo tipo (forme allungate) e del secondo (forme a palla).

Nella fig. 15 (immagine positiva) le due forme sono così ravvicinate fra di loro, da non potersi distinguere se e fino a qual punto vi sia una intima connessione, e se, eventualmente, la formazione degli elementi a palla non sia da imputare ad un processo di divisione atipico sul tipo da noi già osservato per la *Pasteurella pestis*; in tal caso la fig. 15 mostrerebbe questa divisione atipica, nella fase terminale.

BRUCELLA MELITENSIS.

L'osservazione elettronica, per il gruppo delle Brucelle, è stata condotta su due ceppi di Brucelle: *Br. melitensis* ceppo A e ceppo Allemandi. In entrambi i casi abbiamo adoperato la concentrazione di 1γ di aureomicina $/\text{cm}^3$ di brodo. Una sola volta abbiamo usato una concentrazione superiore di antibiotico ($10 \gamma/\text{cm}^3$), ma per difficoltà tecniche, come diremo in seguito, siamo riusciti a riprendere una sola fotografia dei germi così trattati.

Le figure 16 e 17 (le figure riprodotte d'ora in poi, eccetto la 28, sono immagini positive) mostrano elementi da brodocultura normali di 42 h.: si noti la perfetta regolarità del bordo della membrana cellulare e l'abituale coartazione centrale del protoplasma.

Anche qui, per quanto in maniera meno marcata dell'*E. coli*, si rileva una duplice modifica della morfologia: in alcuni casi (fig. 18 e 19) allungamento e assottigliamento del corpo cellulare, con perdita della caratteristica regolarità del bordo della membrana cellulare; in altri casi (fig. 20 e 21) tendenza ad assumere una forma rotondeggiante. La fig. 22, che ha molti punti di rassomiglianza con la 15, porterebbe a supporre che l'aureomicina può determinare una certa atipia nel processo della divisione cel-

lulare. Ciò risulta anche confermato dai risultati ottenuti con la *Brucella* ceppo Alleandi. L'aspetto morfologico di tale ceppo è dissimile dal precedente, in quanto il corpo batterico è quasi rotondeggiante. Tuttavia mentre nelle brodoculture normali si osservano elementi che mostrano l'abituale aspetto della divisione cellulare (fig. 29), nelle brodoculture trattate con aureomicina si osservano elementi in cui la divisione cellulare avviene ai due estremi del corpo batterico (fig. 24) o ad un estremo (fig. 25) e spesso in due punti successivi della cellula batterica (fig. 26).

L'interesse di questa osservazione, se confermata da ulteriori ricerche, è notevole, in quanto potrebbe essere legata a modificazioni determinate dall'aureomicina nei processi metabolici della cellula batterica, modificazioni che risulterebbero maggiormente nella fase di divisione cellulare, dato che in tale circostanza tali processi subiscono necessariamente un andamento intenso e tumultuoso.

La fig. 27 è l'unica fotografia che, per necessità tecniche, siamo riusciti ad ottenere da una brodocultura di *Brucella* trattata con 10 γ di aureomicina per cm³: si osserva una bacteriolisi parziale, che non raggiunge però il quadro osservato per il *B. del tifo*. Ulteriori ricerche dovrebbero confermare tale osservazione.

Roma - Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Microbiologia.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Per notizie dettagliate sull'aureomicina si consulti il numero del 30.X.1948 dell'Ann. N.Y. Acad. Sci., dedicato in gran parte a questo antibiotico.
- 2) ROSS S. e COLL. - Aureomycin: preliminary report of a clinical trial. - Clin. Proc. Child. Hosp. 4-315 (1948).
- 3) COLLINS H. S. e COLL. - Aureomycin in treatment of pneumococcal pneumonia and meningococcemia. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 69-263 (1948).
- 4) SPINK W. W., BRAUDE A. I., CASTANEDA R. M., GOTTIA S. R., Aureomycin therapy in human brucellosis due to *Bruc. melitensis*. 138-1145 (1948).
- 5) BOYD H., PRIGNANO J., Brucellosis treated by aureomycin: case report. - Connecticut Med. J., 13-435 (1949).
- 6) WOODWARD T. E. e COLL. - Aureomycin in treatment of experimental and human tularemia. - J.A.M.A. 139-830 (1949).
- 7) WRIGHT L. T. e COLL. Aureomycin: a new antibiotic with virucidal properties. J.A.M.A. - 138-408 (1948).

- 8) WONG S. G. a. COX H. R. - Action of Aureomycin against experimental Rickettsial and viral infections. - N. Y. Acad. Sc. - 21 luglio 1948.
- 9) ROSS S. e COLL. - Aureomycin therapy of Rocky mountains spotted fever. - J.A.M.A. - 138-1213 (1948).
- 10) COOKE C. - Rocky Mountain spotted fever treated with Aureomycin. J.A.M.A. - 138-885 (1948).
- 11) SCHOENBACH E. B. - Aureomycin therapy of recrudescent epidemic typhus (Brill's disease) - J.A.M.A. - 139-450 (1949).
- 12) SCHOENBACH E. B. a. BRYER M. S. - Treatment of primary atypical non-bacterial pneumonia with aureomycin. - J.A.M.A. - 139-275 (1949).
- 13) MEIKLEJOHN G. a. SHRAGG R. I. - Aureomycin in primary atypical pneumonia. J.A.M.A. 140-391 (1949).
- 14) KNEELAND Y., ROSE M. M. a. GIBSON C. D. - Aureomycin in treatment of primary atypical pneumonia. Am. J. Med. 6-4 (1949).
- 15) FINLAND M., COLLINS H. S. a. WELLS E. B. - Aureomycin in the treatment of primary atypical pneumonia. New Engl. J. Med. 240-241 (1949).
- 16) LEVADITI C., VEILLET J., et HENRY-EVENO J. - Deux nouveaux antibiotiques efficaces dans les maladies provoquées par des ultravirus et des rickettsia: l'aureomycine et la cloromicétine. Sem. Hôpitaux Paris, 47-1 (1949).
- 17) FINLAND M., COLLINS H. S. a. PAINE T. F. - Aureomycin: a new antibiotic. J.A.M.A. 138-946 (1948).
- 18) BRYER M. S., SCHOENBACH E. B., CHANDLER C. A., BLISS E. A. a. LONG P. H. - Aureomycin: experimental and clinical investigations. J.A.M.A., 138-117 (1948).
- 19) RUTENBURG A. M. a. SCHWEINBURG F. B. - Aureomycin in urinary infections due to gram-negative organisms. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 70-464. 1949.
- 20) BLISS E. A. a. CHANDLER C. A. - In vitro studies of Aureomycin, a new antibiotic agent. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 69-467 (1948).
- 21) PAINE T. F., COLLINS H. S. a. FINLAND M. - Bacteriologic studies on Aureomycin. J. Bact., 56-489 (1948).
- 22) GALPINE J. T. - A case of abortus infection treated with Aureomycin. Brit. Med. j., 1-1037 (1949).
- 23) HERRELL W. E., e BARBER T. E. - The combined use of aureomycin and dihydrostreptomycin in the treatment of brucellosis. Proc. Staff Meet. Mayo Clinic, 24-138 (1949).
- 24) HEILMAN F. R. - The effect of combined treatment with aureomycin and dihydrostreptomycin on Brucella infections in mice. Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic, 24-133 (1949).
- 25) MAGOFFIN R. ANDERSON D., a. SPINK W. W. - Therapy of experimental Brucella infection in the developing chick embryo. Immun. J. 62-125 (1949).
- 26) PALA A. - Brucellosi ed aureomicina - Gaz. Intern. Med. e Chir. 53-5 (1949).
- 27) CONTI F. CASSANO A. La cura della Brucellosi nell'aureomicina. Rif. Med., 63-681 (1949).
- 28) SCAZZELLA M. MIGAZZO C. e CAPPIO M. - Su alcuni casi di tifo, trattati con aureomicina e cloromicetina. Min. Med. 40-875 (1949).

29) LILLO L., SCANGA F., GANDOLFO N. - L'assorbimento della penicillina in veicolo idro-ematico. Rend. Ist. Sup. San. 11-1194 (1948).

30) SCANGA F. - Sulla possibile utilizzazione della pectina, quale mezzo ritardante l'assorbimento della penicillina. Athena, 15-34 (1949).

31) SCANGA F. - L'azione della streptomina sui germi, osservata al microscopio elettronico con la tecnica delle ombre. Rend. Ist. Sup. San. 11-980 (1948).

32) SCANGA F. - L'azione della streptomina, del solfone e di alcuni disinfettanti sui germi, studiate al microscopio elettronico. Rend. Ist. Sup. San. 11-970 (1948).

33) SCANGA F. - La bacteriolisi da penicillina, osservata al microscopio elettronico. Rend. Ist. San. 13-91 (1950).
