

16. Franco SCANGA — L'uso del liquido di cultura di *Penicillium notatum* in toto nel trattamento locale.

Allorchè ci troviamo di fronte ad una infezione strettamente localizzata e che presenta una superficie o una cavità accessibile direttamente alla penicillina (come per es. ferite, scottature, piodermiti, ascessi ecc.) l'uso di questo medicamento potrà anche farsi solo per applicazione locale.

I vantaggi della cura locale sono diversi :

1) anzitutto essa comporta una notevole economia del prodotto e conseguentemente offre la possibilità di un suo uso più diffuso, il che rappresenta al momento attuale un duplice indiscutibile vantaggio;

2) in secondo luogo, poi, pur adoperando piccole dosi di penicillina, si riesce ad ottenere in corrispondenza delle superfici infette, vale a dire a stretto contatto con i germi infettanti, una concentrazione massiva del medicamento, molto maggiore di quella che si avrebbe con il solo trattamento generale;

3) inoltre l'uso locale della penicillina riesce particolarmente comodo e gradito perchè, a parte un leggero e transitorio bruciore che in determinati casi può aversi nel punto di applicazione del medicamento, esso non dà alcun disturbo; inoltre, dovendosi la medicatura rinnovare ogni 24 h, si eviterà il fastidio di sottoporre il paziente ad una serie sistematica d'iniezioni, a pagare cioè quello che gli americani chiamano « the price of success » (1).

Già Fleming (2) nella sua comunicazione del 1929 aveva previsto la possibilità dell'impiego locale della penicillina. Ed infatti sin dalle prime applicazioni cliniche del nuovo medicamento, è stato soprattutto nelle ferite di guerra che la penicillina ha incominciato a trovare le prime estese applicazioni: Florey (3-4), Christie, Garrod (5), Keefer (6) e molti altri (7-8-9) comunicarono i brillanti risultati da loro ottenuti con l'uso della penicillina, per applicazione diretta sulle parti ammalate.

Essi in genere usavano la penicillina pura sotto forma di sale sodico in soluzione contenente da 250 a 1000 U. O. per cc. o sot-

toforma di pomata (*) contenente circa 250-500 U.O. per gr. (10) oppure sottoforma di polvere (11) eventualmente mescolata con sulfamidici (12-13). Tuttavia poichè la penicillina pura non è ancora largamente disponibile sul mercato, motivo per cui il suo prezzo di acquisto si mantiene tuttora elevato, numerosi tentativi sono stati fatti per trovare un metodo di preparazione e utilizzazione del medicamento, che non comportasse la laboriosa e costosa estrazione e purificazione dell'antibiotico.

Alston (14) ha pertanto cercato di usare per applicazione locale il filtrato non trattato di una cultura di *Penicillium notatum*. Dopo aver fatto sviluppare in adatte condizioni la muffa, egli filtrava per Seitz il liquido di cultura, ne saggiava l'attività antibiotica con il ceppo standard di Stafilococco Oxford (in genere si avevano da 4 a 10 U.O. per cc.), e, dopo aver accertata la penicillino-sensibilità del germe infettante, applicava sulla lesione o ferita il filtrato mediante garza imbevuta in essa o sottoforma di pomata contenente il 68% di filtrato. I risultati ottenuti erano uguali a quelli che si avevano con l'uso del sale calcico o sodico di penicillina.

Hobson e Galloway (15) c'informano di aver ottenuto anche dei buoni risultati con l'uso di penicillina bruta, il cui metodo di preparazione è molto semplice ed alla portata di tutti: trattasi della così detta « home made penicillin », penicillina preparata in casa. Ma, come giustamente fa osservare Raper e Coghill (16) questo metodo di preparazione comporta troppi rischi, perchè il suo uso possa essere consigliato ed esteso.

Enoch e Wallersteiner (17), e recentemente anche Babudieri (18) hanno usato, e sembra con buon successo, una sospensione contenente lo stesso *Penicillium notatum* vivente insieme con le sostanze antibatteriche contenute nel liquido di cultura, privato però di tutte le impurità e delle sostanze pirogene.

Robinson e Wallace (20) hanno descritto un metodo per la preparazione della penicillina bruta nelle scatole di Petri, contenenti ciascuna 8 strati di garza impregnati con un adatto terreno

(*) Ottima la pomata consigliata da Clark e coll. (19) così composta: lanolina gr. 150, olio di ricino gr. 120; scaldare a 60°-70° C., aggiungere a poco a poco 275 cc. di acqua distillata; a 30 parti di questo eccipiente aggiungere 5 parti di una soluzione acquosa di penicillina contenente 800 U.O. per cc. La pomata si mantiene attiva per 2-3 settimane.

di cultura. Su questi essi seminano le spore di *Penicillium* e, dopo permanenza per 4-12 gg. a 22°-26° C. essi adoperano per applicazioni locali questa garza contenente le culture viventi. Anche Meyers (21) ha consigliato l'uso della garza impregnata con la muffa vivente; ma secondo Pulvertaft (22) questo metodo presenta l'inconveniente che manca un controllo dell'attività del prodotto.

Hobson (23) e Fischer (24) usano per lo sviluppo del *Penicillium* dei particolari liquidi di cultura, i quali, dopo incubazione per 7 gg., sono filtrati per Seitz e quindi dopo averne saggiata la sterilità e l'attività, sono pronti per l'uso. Anche Hoyt (25) e Durrayer (26) hanno consigliato l'uso locale della penicillina bruta preparata con metodi piuttosto facili.

In questo lavoro io comunico i risultati ottenuti in varie infezioni e lesioni superficiali con l'uso del terreno di cultura del *Penicillium notatum in toto*. Vale a dire la penicillina da me adoperata non è costituita dal liquido dove si è sviluppata la muffa, filtrato per Seitz, come hanno fatto la maggior parte degli AA. anglo-americani, che hanno voluto adoperare la penicillina bruta per uso locale; nè è costituita unicamente dalla muffa stessa fatta crescere opportunamente su garza o variamente trattata e purificata.

Io ho adoperato il liquido di cultura *in toto*, senza filtrazione per Seitz, e contenente quindi come vedremo in seguito anche le ife viventi del micelio e tutte le altre parti della muffa che, con lo sbattimento era possibile portar via dallo spesso feltro del *Penicillium*. In questo liquido, oltre alla penicillina propriamente detta, si trovano presenti anche altri metaboliti antibiotici che è risaputo esser prodotti dal *Penicillium* (27-28-30-31-32). Questo spiega forse perchè l'azione antibatterica della « penicillina bruta » vale a dire di un liquido contenente poche decine di U.O. per cc. possa dare dei risultati uguali se non superiori (33) a quelli che si ottengono con soluzioni di penicillina pura aventi 250-500 U.O. per cc.: in questo caso infatti l'azione antibatterica è esplicata dalla sola penicillina, poichè i comuni processi di estrazione e purificazione comportano la distruzione di tutti gli altri antibiotici, che, come abbiamo fatto rilevare, si trovano invece nel liquido di cultura non purificato.

In tutti i casi da me trattati non ho dovuto mai rilevare alcun effetto tossico o alcun apprezzabile disturbo locale o generale, im-

mediato o tardivo imputabile ai componenti il terreno di cultura. Anche quando, come nelle scottature, la superficie di applicazione del medicamento era piuttosto estesa, non ho constatato alcuna forma di sensibilizzazione imputabile alle proteine ed all'altre impurità presenti nella preparazione (16).

Come *Penicillio* ho adoperato quello proveniente da Oxford siglato 1249 che, secondo le ricerche di Raper (16) è risultato essere il migliore per la crescita in superficie.

Come terreno di cultura ho adoperato in un primo tempo quello all'infuso di grano, e successivamente il terreno all'infuso di mais. Entrambi hanno risposto molto bene, riuscendo ad avere sempre uno sviluppo costante e rigoglioso della muffa, con una buona produzione di penicillina. I particolari riguardanti la preparazione dei due terreni di cultura sono descritti in un altro lavoro (34); qui mi limito a fornire i seguenti dati: si versano in una Roux della capacità di un litro, 200 cc. di un liquido nutritivo, i quali vengono quindi insemenzati con cc. 1 di una sospensione di spore molto vitali; si pone ogni Roux in termostato a 24° C., per 8 giorni; durante questo periodo all'interno della bottiglia il *Penicillium* si sarà abbondantemente sviluppato ricoprendo di uno spesso feltro bianco-verdastro tutta la superficie del liquido e facendo assumere allo stesso liquido un colorito giallognolo per la presenza di un pigmento chiamato crisogenina. Dopo 8 giorni ogni Roux viene tolta dal termostato ed il liquido, in essa contenuto viene fortemente agitato, servendosi anche di una bacchetta di vetro sterile, molto utile per spezzettare lo spesso e resistente strato di muffa. Quindi con una pipetta sterile da 100 cc. si aspira tutta la parte liquida e la si versa in un Erlemayer, che si pone in ghiacciaia. Si controlla la sterilità (*) ed il numero di U.O. contenute per cc. (**) e quindi il liquido è pronto per l'uso.

Quando occorre, se ne preleva la quantità che si presume necessiti per il caso da trattare e la si versa in una capsula di Petri, sterile, dal diametro di circa 12 cm., nella quale siano state in precedenza poste delle falde di garza sterile, occorrenti per la medicatura.

(*) La prova di sterilità è praticata seminando una goccia del liquido in esame in sei provettoni contenenti 20 cc. di brodo nutritivo.

(**) La ricerca delle U.O. contenute in 1 cc. è eseguita con il metodo delle brodo-diluizioni.

Norme generali da tener presente in ogni caso sono :

1) Occorre anzitutto praticare un'accurata *toilette* locale, ove questa è possibile: allontanare eventuali croste, coaguli, spessi fiocchi di pus, corpi estranei, materiale necrotico o altro che, anche per sola azione meccanica, impedirebbe al medicamento di arrivare ovunque a stretto contatto con i germi infettanti e di esplicare così dappertutto la sua azione antibatterica.

2) Non dev'essere usato in precedenza alcun disinfettante (specialmente se ossidante): qualora occorra pulire la parte, bisogna servirsi solo di acqua bollita o di soluzione fisiologica sterile.

3) Ove dopo le prime medicature non si constati almeno un sensibile miglioramento dell'affezione, è necessario saggiare la sensibilità specifica del germe infettante verso la penicillina (34) onde eventualmente intervenire con una concomitante terapia sulfamidica locale.

4) Ricoprire sempre la garza impregnata di penicillina bruta con guttaperga laminata, ciascun margine della quale dovrà oltrepassare il corrispondente margine della garza di oltre 3 cm. A seconda del tipo e della sede della lesione, si provvederà a fissare la guttaperga con una semplice fasciatura oppure, quando questo non è possibile per estrema mobilità della parte o per altri motivi, si provvederà a fissare i margini della guttaperga con 4 strisce di leucoplasto.

La guttaperga è necessaria perchè impedisce al liquido di evaporare cosicchè sarà sufficiente praticare una sola medicatura ogni 24 h.

5) Nei limiti del possibile, il trattamento penicillinico dev'essere continuato per qualche giorno dopo l'avvenuta apparente guarigione.

Riassumo molto brevemente i casi trattati:

Ustioni (13-19-35). Casi trattati 6. Risultati ottimi.

L'applicazione del medicamento è stata fatta sia a scopo profilattico, per prevenire eventuali infezioni, sia a scopo curativo, quando, essendosi intervenuti con ritardo, l'infezione era già in atto. I risultati sono stati sempre ottimi. Il processo di cicatrizza-

zione della scottatura svolgendosi in ambiente reso e tenuto sterile, è stato rapidissimo.

In un solo caso i risultati sono stati non del tutto soddisfacenti: trattavasi di un bambino di circa 3 anni, con scottature multiple di 1° e 2° grado all'addome, allo scroto, alla regione perineale, alla faccia interna delle coscie e all'avambraccio sinistro. La causa dell'insuccesso deve ricercarsi nel fatto che il bambino; appartenente a povera gente, veniva ogni mattina portato in ambulatorio con tutte le fasciature disfatte e bagnate di urina. Nelle parti invece nelle quali si riusciva a mantenere un'idonea medicatura (come l'avambraccio sinistro e la parte alta dell'addome) la guarigione si ebbe in 4 giorni.

Ascessi (36). Casi trattati 8. Risultati ottimi.

L'applicazione della penicillina era fatta incominciando dalla seconda medicatura dopo l'incisione dell'ascesso; ho ritenuto opportuno non adoperare il medicamento sin dal primo momento, perchè il pus presente all'inizio in notevole quantità veniva ad esercitare un'azione meccanica di lavaggio del medicamento, per cui questo non aveva praticamente la possibilità di esplicare la sua azione sufficientemente.

La garza impregnata di penicillina era opportunamente disposta all'interno della cavità ascessuale in maniera da riempire ogni spazio e non lasciare così nessuna parte infetta senza l'azione del medicamento.

Pur ricoprendo come al solito la medicatura con guttaperga, raccomandavo sempre al paziente, nelle prime sei ore dopo l'applicazione della penicillina, una posizione tale che evitasse il defluire del liquido dalla cavità.

Ferite (13-37-38-39). Casi trattati 4. Risultati ottimi.

Quando con il medicamento s'è potuto intervenire entro le 12 ore, il processo di cicatrizzazione s'è svolto per intero in condizioni di sterilità. Negli altri casi la detersione delle ferite s'è ottenuta spesso con due sole medicature.

Paterecci (40): a) superficiali 5 - Risultati buoni
b) profondi 3 - » »
c) ossei 2 - » sfavorevoli.

L'applicazione del medicamento è stata iniziata dopo l'incisione del patereccio. Mentre nelle infezioni delle parti molli, sia superficiali che profonde si sono ottenuti sempre risultati buoni, se si esclude un caso in cui l'infezione è risultata poi essere mantenuta da un bacillo resistente alla penicillina, nei paterecci ossei i risultati sono stati negativi.

Ulceri varicose infette della gamba. Casi trattati 2. Risultati discreti.

Fra i casi trattati e guariti, ritengo meritevole di citazione un paziente sofferente da circa 3 mesi di ulcera torpida infetta su fondo varicoso della gamba destra. Sono state sufficienti 4 medicature alla penicillina per ottenere la completa sterilizzazione della piaga; anche il processo di cicatrizzazione si è completato in un tempo relativamente breve.

Foruncolosi. Casi trattati 3. Risultati dubbi.

E' ovvio che sul foruncolo in via di formazione la penicillina per uso esterno, non può apportare alcun giovamento. Il medicamento può esplicare la sua azione sul foruncolo aperto, impedendo il diffondersi del processo infettivo, favorendo l'eliminazione del cencio, facendo diminuire la secrezione di pus ed agevolando il processo di cicatrizzazione. Nei casi da me trattati, i risultati non sono stati sempre chiari, in quanto mentre alcune volte la medicazione con penicillina rivelava un'azione veramente favorevole, non era infrequente il caso di una reinfezione viciniora, che tornava a far riformare il processo infettivo; vero è che in due dei tre casi curati si trattava di foruncolosi del collo, in vicinanza del cuoio capelluto così che era difficile allestire una medicatura che non comportasse una rapida evaporazione del liquido medicamentoso.

Fistola perianale. Casi trattati 1. Risultato sfavorevole.

Il tragitto fistoloso è risultato mantenuto da una flora batterica mista, in parte penicillo-resistente.

Mastite. Casi trattati 1. Risultato buono.

La detersione della ferita operatoria s'è ottenuta con due sole medicature.

Cisti sebacea infetta. Casi trattati 1. Risultato buono.

La garza alla penicillina, introdotta, dopo raschiamento generoso della parete ascessuale, ha permesso l'istituirsi di un processo di guarigione in ambiente sterile sin dalla seconda medicatura.

Piodermiti (Impetigo, Ectima) (41-42-43). Casi trattati 8. Risultati buoni.

Dopo asportazione delle croste ed apertura di tutte le bolle piene di pus, ho praticato, come al solito, la medicatura con penicillina. Tutti i casi sono guariti spesso anche con due-tre medicature.

Sicosi volgare della barba (43). Casi trattati 2. Risultati discreti.

La durata del trattamento è risultato in genere un po' più lungo che nel caso delle piodermidi. In uno dei due pazienti trattati, ho associato anche l'uso del sulfotiazolo in polvere.

Eczema impetiginizzato cronico. Caso trattato 1. Risultato parzialmente buono.

Trattasi di un paziente che, per le conclusioni che se ne possono trarre, merita una citazione più particolareggiata.

L'ammalato venne da me perchè sofferente da molti mesi di una piaga infetta che comprendeva tutta la superficie posteriore ed interna della gamba destra, per un'estensione che andava da 4 dita sotto il ginocchio sino a due dita sopra l'articolazione del piede. La superficie della piaga era in parte ricoperta da granulazioni torpide, in parte da croste giallastre, al di sotto delle quali si formava costantemente del pus abbondante. La gamba era di colorito cianotico, edematoso e l'edema si estendeva sino al piede, tanto che il paziente non poteva più nemmeno calzare la scarpa.

L'ammalato aveva sperimentato una numerosa serie di pomate e di polveri varie. Iniziai la terapia penicillinica, dopo aver proceduto ad un'accurata *toilette* locale. Dopo 3 medicature il pus è scomparso, la piaga è quasi tutta ricoperta, l'edema è dimi-

nuito tanto che il paziente può rimettere comodamente le sue scarpe.

Dopo altre due medicature, tutta la superficie della lesione è ricoperta di epitelio: ma trattasi di un epitelio spesso, duro, anaelastico, che si può portar via come una spessa lamella. Ad ogni modo essendo il processo infettivo guarito sospesi dopo alcuni giorni il trattamento penicillinico. Senonchè dopo circa una settimana il paziente ritorna perchè quasi al centro della precedente lesione, l'epitelio neoformato, ch'era diventato di consistenza pergamenacea, si era riaperto, dando luogo alla fuoriuscita continua di un liquido sieroso, il quale aveva anche incominciato ad infiltrarsi tutto intorno sotto l'epitelio stesso.

Decido allora di trattare la lesione con una pomata a base di sostanze cheratoplastiche: risultato negativo. La superficie s'infetta di nuovo; riprendo allora il trattamento penicillinico, usando però la precauzione di mescolare il medicamento con glicerina. Il processo infettivo guarisce subito di nuovo: l'epitelio neoformato sembra che non abbia più i caratteri precedenti; purtroppo però il paziente per cause non dipendenti dalla sua volontà, deve interrompere il trattamento.

Questo caso è servito a farci rilevare come la penicillina agisce solo contro l'elemento infettivo e non sulla componente eczematoso: essa elimina rapidamente l'infezione, ma non può logicamente agire in maniera diretta sull'eczema vero e proprio e sui disturbi di trofismo dell'epitelio, derivanti da alterata ed insufficiente circolazione vasale.

In base ai risultati conseguiti in tutti casi da me trattati, io penso che sia senz'altro possibile trarre le seguenti conclusioni:

- 1) L'applicazione locale della penicillina, se usata a scopo profilattico, riesce ad impedire l'impianto dei comuni germi della suppurazione; ove questa sia già in atto, si ottiene una rapida scomparsa del pus, in alcuni casi dopo una sola medicatura.

- 2) Contemporaneamente si ha rapida regressione del dolore, dell'edema e dell'infiltrato infiammatorio.

- 3) Il processo di granulazione viene enormemente favorito ed accelerato dall'ambiente sterile che la penicillina crea e mantiene; pertanto il tempo di cicatrizzazione risulta notevolmente ridotto.

4) Tutto questo comporta una diminuzione del numero complessivo delle medicature necessarie, il che significa: risparmio di materiale e recupero anticipato del paziente alle sue normali attività.

5) Non v'è alcuna controindicazione speciale all'uso della terapia penicillinica locale.

Roma - Istituto Superiore di Sanità — Laboratorio di batteriologia.

RIASSUNTO

E' descritto l'uso del liquido di cultura *in toto* del *Penicillium notatum*, per applicazione locale, nelle infezioni strettamente circoscritte e superficiali. Pur adoperando un liquido contenente poche decine di U.O. per cc., i risultati ottenuti sono ottimi e comunque non inferiori a quelli che si hanno con l'uso di soluzioni di penicillina pura, aventi 250-500 e più U.O. per cc.

RESUMÉ

L'Auteur décrit l'usage en applications locales du bouillon de culture du *Penicillium notatum* dans les infections superficielles et limitées. Même en employant un bouillon avec quelques dizaines d'unités Oxford par cc., les résultats obtenus sont excellents et en tout cas pas inférieurs à ceux qu'on obtient avec l'usage de solutions de pénicilline de sodium ayant 250-500 Unités par cc. et au delà.

SUMMARY

A description is made of the use of the culture liquid « in toto » of the *Penicillium notatum*, for local application, in quite limited and superficial infections. Even when using a liquid containing but a few tens of Oxford Units per cc., very good results are obtained, which, in any case, are not inferior to the ones reached by the use of solutions of pure penicillin having 250-500 O.U. and upwards per cc.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird die Verwendung des Nährbodens des *Penicillium notatum in toto*, bei örtlicher Behandlung, in stark umschränkten un oberflächlichen Infektionen beschrieben. Auch bei Benützung eines Nährbodens, welcher wenige Zehntel O. U. (Oxford Unit) pro cm³ enthält, erreicht man vorzügliche und jedenfalls nicht geringere Ergebnisse, als jene, welche bei Benützung von Lösungen aus reinem Penicillin mit 250-500 und mehr O.U. pro cm³ erreicht werden.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) BENTLEY F. H. The treatment of flesh wounds by early secondary suture and penicillin. Brt. J. of Surgery. Special issue, 32, 132, 1944.
- (²) FLEMING A. On antibacterial action of the cultures of *Penicillium* with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. — Brit. J. Exper. Path. 10, 226, 1929.
- (³) FLOREY M. E. a. FLOREY H. W. General and local administration of penicillin — Lancet 1, 387, 1943.
- (⁴) FLOREY H. W. Penicillin in war wounds. A reports from the Mediterranean — Lancet 2, 742, 1944.
- (⁵) GARROD L. P. The treatment of war wounds with penicillin. — War. Med. 4, 319, 1944.
- (⁶) KEEFER C. S., BLAKE F. G., MARSHALL E. K. Jr., LOCKWOOD I. S. a. WOOD W. B. Jr. Penicillin in the treatment of infections; a reporte of 500 cases. — J. A. M. A. 122, 1217, 1943.
- (⁷) FRASER J., THOMSON S., a. PIRIE A. The treatment of chronically septic war wounds with penicillin. — War. Off. Pubbl. 7, 90, 1943.
- (⁸) FRASER J., JEFFREY J. S., MC LENNAU I. D. a. THOMSON S. Prevention of wound sepsis by penicillin. — War. Off. Pubbl. 7, 90, 1943.
- (⁹) JEFFREY J. S. Application of penicillin to war wounds Brit. J. of Surg. — Special issue. 124, 1945.
- (¹⁰) ACKMAN a. SMITH. Bacteriological and clinical observations on the local treatment of infections and fresh trauma with a penicilin-cream. — Canad. M. A. J. 51, 493, 1944.
- (¹¹) BARRON J. N., a. MANSFIELD O. T. The local application of penicillin in soft tissue lesions — Brit. M. J. 1, 521, 1944.
- (¹²) JEFFREY J. S. a. THOMSON S. Penicillin in battle casualties. — Brit. Med. Jour. 2, 1, 1944.
- (¹³) BODENHAM D. C. Infected burns and surface wounds: the value of penicillin. — Lancet 2, 725, 1943.
- (¹⁵) HOBSON A. J. a. GALLOWAY L. D. Home-made penicillin. — Lancet 1, 164 e 230, 1944.

- (¹⁶) RAPER K. B. a. COGHILL R. D. Home made penicillin. — J. A. M. A., 123, 1135, 1943.
- (¹⁷) ENOCH H. E. a. WALLERSTEINER W. K. S. A standardized antibacterial pirogen-free metabolite preparation containing living *Penicillium notatum*. — Nature 153, 380, 1944.
- (¹⁸) BABUDIERI B. La vivicillina. — Clinica Nuova 1, 150, 1944.
- (¹⁹) CLARK A. M., COLEBROOK L., GIBSON T., THOMSON M. L. a. FOSTER A. Penicillin and propamidine in burns. — Lancet 1, 605, 1943.
- (²⁰) ROBINSON G. H. a. WALLACE J. E. An inoculated penicillin dressing. — Science 98, 329, 1943.
- (²¹) MYERS. The use of gauze inoculated with *Penicillium notatum* or impregnated with crude penicillin in the treatment of surface of infections. — New England J. Med. 231, 671, 1944.
- (²²) PULVERTAFT R. J. V. Local therapie of war wounds, with penicillin. — Lancet, 2, 341, 1943.
- (²³) HOBSON A. J. Crude penicillin. — Lancet 1, 614, 1944.
- (²⁴) FISHER A. M. The antibacterial properties of crude penicillin. — Bull. Johns Hopkins Hosp., 73, 343, 1943.
- (²⁵) HOYT R. E. a. LEVANE M. G. Preparation of crude penicillin for local application. — Am. J. Cl. Path. (Tech. Suppl.) 14, 65, 1944.
- (²⁶) DUNAYER e al. Crude penicillin: its preparation and clinical use externally. — Ann. Surg. 119, 791, 1944.
- (²⁷) ATKINSON N. Antibacterial substances produced by molds. Penicidin, a product of the growth of a *Penicillium*. — Austr. J. Exp. Biol. a. Med. 20, 287, 1942.
- (²⁸) COULTHARD C. E., MICHAELIS R., SHORT W. F., SYKES G.; SKRIMSHIRE G. E. H., STANDFAST A. F. B., BARKINSHAW J. H. a. RAISTRICK H. Notatin: an antibacterial glucose-aerodehydrogenase from *Penicillium notatum* Westling. Nature, 150. 934, 1942.
- (²⁹) BIRKINSHAW J. H. a. RAISTRICK H. Notatin: an antibacterial glucose aerodehydrogenase from *Penicillium notatum* Westling. — J. Biol. Chem. 148, 459, 1943.
- (³⁰) KOCHOLATY W. Cultural characteristics of *Penicillium notatum* in relation to the production of antibacterial substance; indication of the dual nature of the antibacterial substance. — J. Bact. 44, 469, 1942.
- (³¹) KOCHOLATY W. Purification and properties of the second antibacterial substance produced by *Penicillium notatum*. — Science 97, 186, 1943.
- (³²) KOCHOLATY W. Purification and properties of Penatin, the second antibacterial substance produced by *Penicillium notatum* Westling. — Arch. Biochem. 2, 73, 1943.
- (³³) FISCHER A. M. The antibacterial properties of crude Penicillin. — Bull. J. Hopkins Hospit. 73, 343, 1943.
- (³⁴) SCANGA F. Il controllo della sensibilità dei germi nella terapia penicillinica. Un metodo di ricerca semplice e di pratica applicazione. — Rendiconti Ist. Sup. Sanità 1945, 8, 485.

- (³⁵) CLARKSON a. PATRICK. The treatment of burns with penicillin. — War Off. Pubbl. 7, 90, 1943.
- (³⁶) GARROD L. P. Brit. Med. Bull. 1, 48, 1943.
- (³⁷) FLOREY M. E. a. WILLIAMS R. E. O. Hand infections treated with penicillin. — Lancet 1, 7, 1944.
- (³⁸) FLOREY H. W. a. CAIRNS H. A. Investigation of war wounds. — Brit. War Off. Pub. A. M. D. 17, 90D/43. — Abstracted in Brit. M. J. 2, 755, 1943.
- (³⁹) MEKISSON W. e al. The need for asepsis in local penicillin. — Brit. Med. Jou. 2, 551, 1944.
- (⁴⁰) BARRON J. N. a. MANFIELD O. T. The local application of penicillin in soft-tissue lesion. — Brit. Med. J. 1, 521, 1944.
- (⁴¹) HOBSON A. J. a. GALLOWAY L. D. Home made Penicillin — Lancet 1, 164 e 230, 1944.
- (⁴²) SCHOCH. Local Penicillin therapy. — Arch. Dermat. a. Syphil 50, 202, 1944.
- (⁴³) HELLVER F. F. a. HODGSON G. A. Penicillin in skin infections in the army. — Lancet 2, 462, 1943.