

77. Giuseppe PENSO. — Soglia di patina e policolonie.

Riassunto. — Dall'insieme dei fatti esposti risultano le seguenti constatazioni:

1. - Colonie ravvicinate di uno stesso ceppo batterico non tendono a fondersi per formare una patina, ma sembrano contrastarsi vicendevolmente deformandosi, quasi per schivarsi.

2. - Esiste per tutti i germi una *soglia di patina*, cioè un limite di concentrazione numerica per unità di volume, limite oltre il quale è possibile ottenere, nelle semine su agar, la formazione di una patina e sotto il quale si ottengono soltanto colonie separate la cui grandezza è tanto maggiore quanto più ci si allontana dalla soglia di patina.

3. - Seminando su agar una goccia di brodocultura o, meglio, una goccia di sospensione batterica contenente un numero di germi leggermente superiore alla soglia di patina, si ottiene una tipica *policolonia* costituita da una costellazione centrale di colonie a superficie poligonale separate le une dalle altre e circondate quasi sempre nel loro insieme da uno o più anelli periferici. Tali policolonie sono costanti e permettono di discernere varietà tra i diversi ceppi di una stessa specie batterica.

Résumé. — De l'ensemble des faits exposés on tire les constatations suivantes:

1. - Les colonies rapprochées d'une même souche bactérienne ne tendent pas à se fondre pour former une patine, mais elles semblent se contraster réciproquement en se déformant, presque pour s'éviter.

2. - Il existe pour tous les germes un *seuil de patine*, c'est-à-dire une limite de concentration numérique par unité de volume, limite au delà de laquelle il est possible d'obtenir, dans les cultures sur gélose, la formation d'une patine et en deçà de laquelle on obtient seulement des colonies séparées dont les dimensions sont d'autant plus grandes qu'on s'éloigne du seuil de patine.

3. - En semant sur gélose une goutte de bouillon de culture ou, mieux, une goutte de suspension bactérienne contenant un nombre de germes légèrement supérieur au seuil de patine, on obtient une *polycolonia* typique constituée par une constellation centrale de colonies à surface polygonale séparées les unes des autres et entourées presque toujours dans leur ensemble d'un ou de plusieurs anneaux périphériques. Ces polyco-

lonies sont constantes et permettent de discerner des variétés entre les diverses souches d'une même espèce bactérienne.

Summary. — From the whole of the above facts the following conclusions may be drawn:

1. - Colonies lying near together of one and the same bacterial strain have no tendency to merge into a confluent growth, but appear to contrast reciprocally, becoming deformed, as though in order to avoid each other.

2. - There exists for all germs a confluent growth-threshold, namely a limit of concentration per volume unit, beyond which limit it is possible to obtain, in agar cultures, the formation of a confluent growth, whereas below this limit only separated colonies are obtained, the dimensions of which are the larger, the farther away one gets from the confluent growth-threshold.

3. - By seeding on agar a drop of broth culture, or, still better, a drop of a bacterial suspension containing a number of germs slightly exceeding that of the confluent growth-threshold, a typical *polycolony* is obtained, formed by a central constellation of colonies with a polygonal surface, separated from one another and nearly always encircled, the whole of them, by one or more peripheral rings. These polycolonies are constant and allow to distinguish varieties among the different strains of one and the same bacterial species.

Zusammenfassung. — Aus der Gesamtheit der dargelegten Tatsachen gehen die folgenden Feststellungen hervor:

1. - Nahe liegende Kolonien ein- und desselben Bakterienstammes zeigen keine Tendenz sich zu einem Belag zu vereinigen, sie scheinen hingegen einander zu widerstreben und deformieren sich, als wollten sie einander ausweichen.

2. - Es besteht für alle Keime eine *Belag-Schwelle*, das heisst eine Grenze der Zahlenkonzentration auf Volumeinheit, eine Grenze über welcher man bei der Zucht auf Agar einen Belag erhalten kann und unter welcher man nur getrennte Kolonien erhalten kann, deren Grösse wächst je weiter man sich von der Belag-Schwelle entfernt.

3. - Wenn man einen Tropfen Kulturbouillon, oder besser, einen Tropfen einer Bakteriensuspension, die eine Anzahl von Keimen enthält,

die kaum grösser als die Belag-Schwelle ist, auf Agar züchtet, entsteht eine typische *Polykolonie*, die aus einer zentralen Konstellation von Kolonien mit polygonalen Oberflächen besteht, die voneinander getrennt und fast immer mitsammen von einem oder mehreren äusseren Ringen umkränzt sind.

Diese Polykolonien sind konstant und ermöglichen es, die Varietäten der verschiedenen Stämme ein- und derselben Bakterienart zu unterscheiden.

Lo studio morfologico dei germi viene correntemente praticato mediante l'osservazione diretta, al microscopio ottico o a quello elettronico, del germe in esame, e mediante lo studio delle colonie che ogni singolo individuo è capace di formare.

Nel primo caso si ha una osservazione morfologica statica, nel secondo caso una osservazione morfologica dinamica, in quanto la morfologia della colonia è in funzione dell'attività e delle capacità biologiche del singolo individuo che l'ha prodotta.

Insisto sul concetto di « singolo individuo », poichè ogni buon batteriologo sa che la caratteristica di una colonia è tanto più specifica quanto con maggior sicurezza essa è la discendente di una singola cellula.

La necessità di studiare colonie di origine monomicrobica è chiara; ma questa necessità non deve far dimenticare che le colonie di origine monomicrobica non sono che la rappresentazione genetica di una singola cellula, e che l'aspetto di quelle colonie è in funzione delle capacità costruttive della prima cellula seminata e delle altre da essa prodottesi per divisione diretta.

In altri termini, la colonia di origine monocellulare è il vero rappresentante morfologico di una genia microbica pura, in quanto che i singoli individui che compongono quella colonia si sono in essa disposti secondo le capacità moltiplicative della prima cellula seminata e di quelle da essa derivate, e secondo le influenze chimiche e fisiche che i singoli individui, ognuno per sè, avranno esercitato sui propri vicini.

E saranno appunto quelle capacità e quelle influenze -endogene ed esogene- a dare alla colonia il suo aspetto e la sua forma tipica.

La colonia, dunque, è un nucleo familiare distinto, è il vero ceppo batterico che ha caratteristiche sue proprie e limitate capacità di espan-

sione. Prendete, per esempio, un coli e seminatelo al centro di una piastra d'agar: esso vi darà una colonia la quale assumerà una forma e un aspetto caratteristico, e raggiungerà una determinata grandezza che non riuscirà a superare. Teoricamente, invece, quella colonia dovrebbe invadere a poco a poco tutto l'agar e dare una vera patina diffusa, il che non avviene, in quanto le capacità genetiche di quel ceppo a un certo momento si esauriscono, bloccate forse dal così detto « complesso biostatico » di Zironi e Carlinfanti (*Medicina e Biologia*: Vol. II, pag. 155). Entrano in giuoco, cioè, fattori chimico-fisici locali in rapporto da una parte con i cataboliti emessi dai germi e rimasti in loco, dall'altra col numero dei germi presenti.

Questi fattori chimico-fisici hanno, dunque, una influenza innegabile sulla grandezza, la forma, la struttura e l'evoluzione di una colonia.

Che cosa succede, invece, quando questi fattori si fanno agire su più colonie coeve e ravvicinate? Che cosa succede, cioè, quando più germi vengono a coltivarsi distintamente e a minima distanza l'un dall'altro? Come reagisce un nucleo familiare di fronte ai cataboliti di un altro o alle azioni chimico-fisiche di un altro nucleo o di più nuclei vicini?

Il rinnovato indirizzo della batteriologia contemporanea — tutta orientata verso lo studio degli antibiotici e dei fattori di crescita, verso quelle sostanze, cioè, che influenzano in senso negativo o positivo la crescita e lo sviluppo di un germe — mi ha portato all'idea di studiare se germi omologhi producono fattori d'influenza reciproca, confortato, in questa idea, dalle considerazioni più sopra esposte dalle quali risulta per l'appunto che la colonia batterica non è, in ultima analisi, che la manifestazione morfologica delle influenze reciproche esercitate l'un sull'altro dai germi derivati da una singola cellula.

Partendo da questo concetto, ho voluto vedere se esso era estensibile oltre la cerchia individuale e applicabile a un insieme di nuclei familiari; vedere, cioè, se anche le colonie derivate da uno stesso ceppo fossero capaci d'influenzarsi a vicenda.

L'idea di questa ricerca era scaturita in me dall'abitudinaria osservazione di piastre d'agar su cui era stato strisciato un germe, onde ottenerlo in colonie isolate. In tali piastre una constatazione mi aveva, infatti, sempre dato da pensare, e precisamente questa: allorchè la massa microbica è abbondante, si forma, lungo lo striscio, una patina; allorchè tale

massa microbica diminuisce, tale patina non si forma più, i germi crescono in colonie isolate o addirittura addossate le una alle altre, conservando sempre l'aspetto di colonia, di nucleo familiare distinto. Quando il ravvicinamento tra colonia e colonia è tale che l'una investe l'altra nella crescita, accade spesso che le due o tre colonie che s'investono non si fondono tra loro per formare una patina, ma deformano la propria configurazione quasi per evitarsi: si possono così vedere due colonie tonde che presentano un tratto del perimetro schiacciato e proprio quel tratto con il quale si affrontano; si possono così incontrare colonie ad otto in cifra modellatesi tra due colonie che hanno loro impedito di assumere l'aspetto e la configurazione normale e così via.

Questo fatto è costante per tutti i germi: nelle unite fotografie (figure 1, 2 e 3) chiaro appare il fenomeno in tre diversissime specie microbiche: un coli, un tubercolare e una banale muffa dell'aria.

Nella prima fotografia si vedono nettamente due colonie di *Escherichia coli* che si sono investite durante la rispettiva crescita; ebbene, le due colonie non si sono fuse per formare una patina, ma hanno cercato quasi di schivarsi: i margini d'incontro si sono fatti rettilinei, e le due metà che si affrontano sono meno sviluppate delle due metà opposte.

Nella seconda fotografia si vedono alcune colonie di *Mycobacterium tuberculosis avium*. Il fenomeno suddetto si ripete con maggior nettezza: le singole colonie, invece di presentarsi a limiti circolari, invece di fondersi nei punti in cui sono venute a contatto, si presentano triangolari giacchè, nella porzione in cui ognuna di esse affronta una consorella, si dispongono su un fronte rettilineo lasciando addirittura un vallo tra le opposte colonie.

Nella terza fotografia riproduco una banale muffa accidentalmente cresciuta in una piastra d'agar: il fenomeno di contrasto tra le varie colonie è nettissimo, là dove esse si affrontano si notano margini rettilinei e minore sviluppo, tendenza al distacco più che alla fusione.

Meditando su queste osservazioni di carattere generale, io mi convinsi che i germi, seminati sopra una superficie di agar, riescono a formare una patina soltanto se superano una determinata soglia, che si potrebbe indicare coll'espressione *soglia di patina*. Per alcuni germi tale soglia è facilmente superabile — per il gruppo delle Salmonelle, per esempio —, per altri è pressochè insuperabile, come per gli Streptococchi.

Da che cosa questa soglia possa essere determinata è forse difficile stabilirlo con esattezza: entra certamente in un giuoco il fattore numero.

Se si prende, infatti, una sospensione di un germe, mettiamo di un coli, e la si diluisce scalarmente, e se si prende poi una goccia di queste varie sospensioni e la si fa cadere sopra una superficie di agar, si otterrà sino a una determinata diluizione una patina, mentre nelle ulteriori diluizioni si otterrà una miriade di piccole colonie che, pur essendo vicine le une alle altre, conservano ognuna la propria individualità.

Per l'*Escherichia coli* la soglia di patina si ha in media con sospensione di 300-500.000 germi per cm^3 , il che significa che con sospensioni di germi con oltre 500.000 individui per cm^3 si ottiene una patina, con sospensioni con meno di 500.000 individui per cm^3 si ottengono colonie isolate.

Interessante il fatto che sorpassando lievemente — verso i suoi valori negativi — la soglia di patina, si ottengono colonie piccolissime e ravvicinate, mentre il diametro delle colonie stesse aumenta coll'aumentare della diluizione e il diminuire del numero delle colonie nell'unità di spazio.

Verrebbe quasi da pensare che una patina sia costituita da un infinito numero di colonie puntiformi, ognuna delle quali non abbia avuto il tempo di acquistare la propria individualità.

Io credo che oltre al fattore « numero di germi presenti nell'unità di spazio », la soglia di patina debba venire influenzata da fattori chimico-fisici e probabilmente dalla rapidità o meno con cui si manifesta l'azione di quel complesso batteriostatico di cui si è detto più sopra.

Evidentemente, in un primo tempo i germi non debbono influenzarsi tra di loro, e ciò si ha nella fase di latenza; al termine di questa, allorchè comincia la moltiplicazione attiva, se i germi vengono immediatamente a contatto si forma la patina che assume allora l'aspetto e il significato di una configurazione a individualità propria, quasi una sorta di grande colonia.

Se i germi, invece, non vengono immediatamente a contatto, ma hanno il tempo di costituirsi ognuno in nucleo familiare, tali nuclei subiranno l'influenza dei vicini allorchè il ritmo moltiplicativo delle cellule si sarà trasformato da geometrico a logaritmico, allorchè, cioè, saranno entrati

in giuoco quei fattori che dapprima rallentano la moltiplicazione dei germi e per ultimo la bloccano.

L'azione di tali fattori derivati da un nucleo sui nuclei vicini è facilmente spiegabile pensando che le secrezioni di un nucleo si spandono a raggiera sulla superficie dell'agar vicino, per cui se in questo vi sono altri nuclei familiari, questi nuclei subiranno l'influenza dei propri vicini.

In altri termini: allorchè non si supera la soglia di patina, le colonie che si formano acquistano individualità familiare ed hanno il tempo di far sentire l'azione dei propri cataboliti o delle proprie possibili energie fisiche sulle colonie vicine, le quali sono costrette a subirne le conseguenze alterando il proprio equilibrio morfologico e quindi deformandosi.

Se tale concetto, sorto dall'osservazione di fatti, è esatto, deve rendersene possibile la dimostrazione sperimentale, deve cioè potersi mettere in opera una tecnica che permetta di ripetere a volontà il fenomeno.

I vari tentativi espletati mi hanno portato ad una tecnica che, malgrado la sua estrema semplicità, non soltanto ha confortato la giustezza della mia ipotesi, ma mi ha condotto più oltre verso osservazioni e constatazioni insperate.

Non starò qui a intrattenermi sulla evoluzione dei tentativi compiuti, dirò soltanto che essi erano tutti diretti al fine di poter coltivare separatamente e in minimo spazio un certo numero di germi onde avere colonie ravvicinate sì, ma separate l'una dall'altra.

Durante questi tentativi mi accorsi che, ove la semina fosse stata fatta entro limiti definiti e circoscritti, si veniva ad ottenere un seminio di colonie che nel loro insieme dimostravano una configurazione tipica e una morfologia caratteristica, configurazione e morfologia non ottenibili casualmente, ma con costanza statistica.

Sul principio, per ottenere semine a limiti definiti e circoscritti, ero solito adoperare un'ansa di platino di un millimetro di diametro, ad anello perfettamente chiuso e facente un angolo di 135° col resto del filo e del suo supporto. L'ansa veniva caricata con un velo sottilissimo di materiale e questo deposto a stampo sull'agar.

Tale tecnica si mostrò buona per ottenere una semina a limiti netti e di figura circolare, ma si dimostrò incomoda e lunga allorchè si volevano fare numerose semine, dovendosi ogni volta riimmergere l'ansa

nella cultura madre e realizzare tutte quelle accortezze necessarie a far restare tra i bordi dell'ansa stessa soltanto un sottilissimo velo di sospensione batterica e non una grossa, per quanto minuscola goccia.

Pensai di aggirare l'ostacolo sostituendo l'ansa con una micropipetta terminante con un tubo capillare del diametro interno di circa 100 micron. Con queste micropipette si potevano ottenere goccioline veramente minuscole.

La preparazione di queste micropipette va fatta al momento dell'uso: si prende una pipetta Pasteur sterile a estremità sottile e lunga, se ne scalda alla lampada un tratto, poco distante dall'estremità, e poi con una pinza si tira la punta sino ad ottenere un capillare sottilissimo e che si piega in modo da fargli formare un arco. Con l'aiuto di una pinza passata sulla fiamma si spezza il capillare alla distanza voluta e la micropipetta è pronta senza bisogno di ulteriori sterilizzazioni.

Per aspirare entro queste micropipette la sospensione batterica occorre una notevole forza di aspirazione dato il forte attrito causato dalla capillarità del tubo. La fuoriuscita delle gocce è invece facilissima. Per ottenere gocce piccole e che si distacchino facilmente dall'estremità capillare, occorre che l'estremità stessa abbia il margine di rottura netto, se tale margine è più o meno dentato o seghettato, le goccioline saranno troppo grandi e, invece di distaccarsi, tenderebbero a risalire lungo la faccia esterna del capillare stesso.

Si badi bene! le gocce non si debbono lasciar cadere dall'estremità della pipetta, ma debbono venir deposte sull'agar appena si affacciano dalla punta capillare.

Con la pratica, si riuscirà facilmente a deporre le goccioline sull'agar. Convien osservare la superficie dell'agar per incidenza, onde evitare di immergere la punta della pipetta nello spessore dell'agar stesso. Sul principio, pungere l'agar sarà quasi inevitabile, quando però la mano avrà preso la dovuta leggerezza, si riuscirà a deporre le gocce senza nessuna difficoltà. Capita spesso, anche senza punger l'agar, di sfiorarlo con l'estremità della pipetta: in questi casi la goccia riesce bene: nel seminio che ne risulta si osserverà da qualche parte una minuscola superficie circolare a crescita più intensa delimitata da un anello sterile: lo spessore delle pareti della micropipetta.



Fig. 1. - Due colonie di *Escherichia coli* che si sono incontrate: piuttosto che fondersi, tendono a deformarsi e a ostacolare lo reciproca crescita; le metà che si affrontano sono più piccole delle altre due metà.

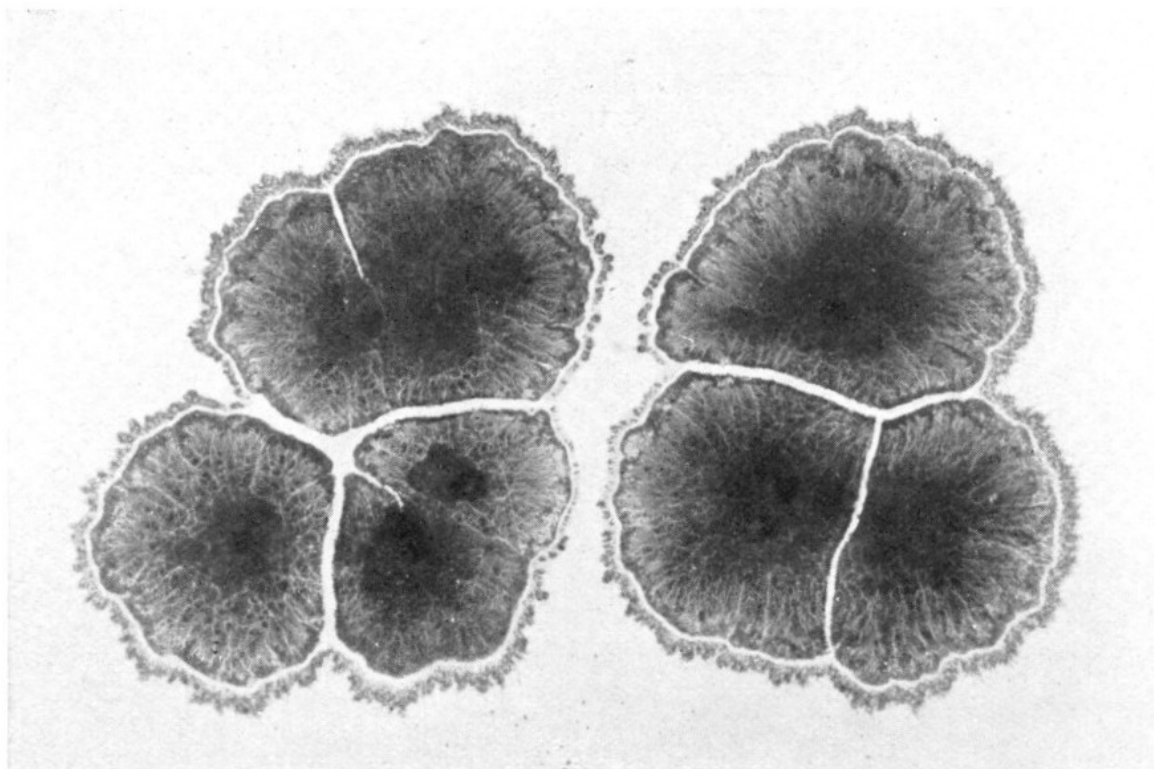


Fig. 2. - Varie colonie di *Mycobacterium tuberculosis avium* che si sono incontrate: appare netta l'azione di ostacolo reciproco esercitata dalle varie colonie che, piuttosto che fondersi, hanno assunto configurazioni triangolari.

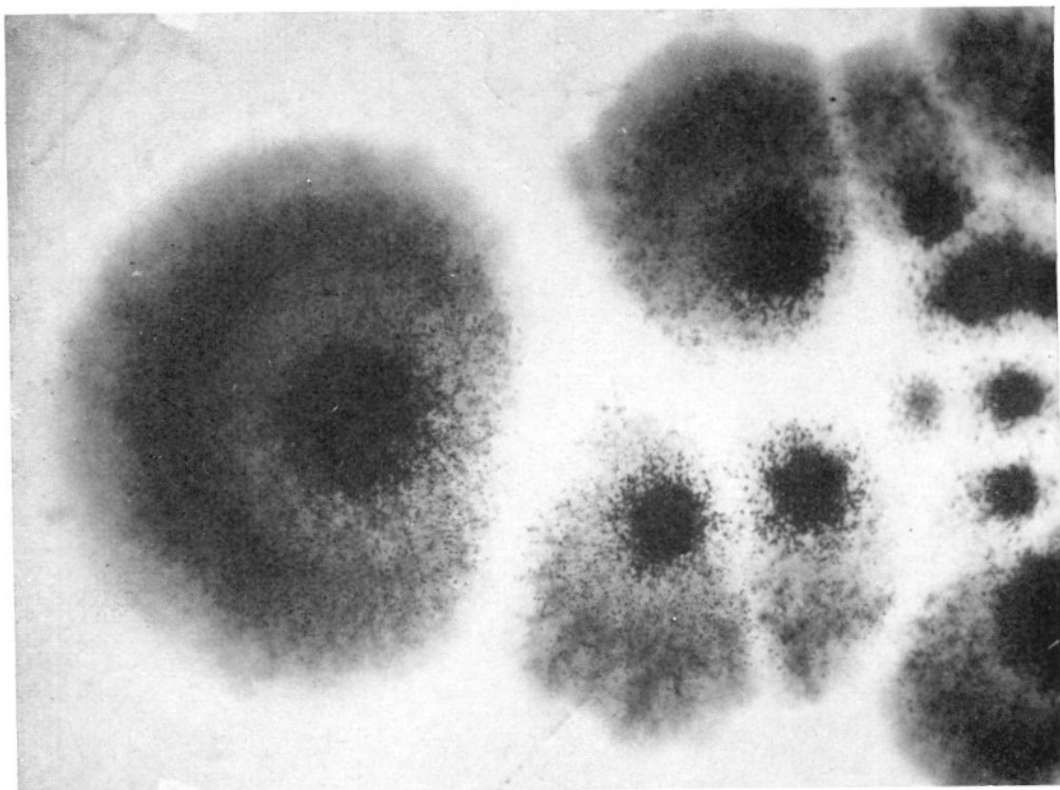


Fig. 3. - Varie colonie di una banale muffa dell'aria: molto evidente l'azione ostacolante di una colonia sull'altra.

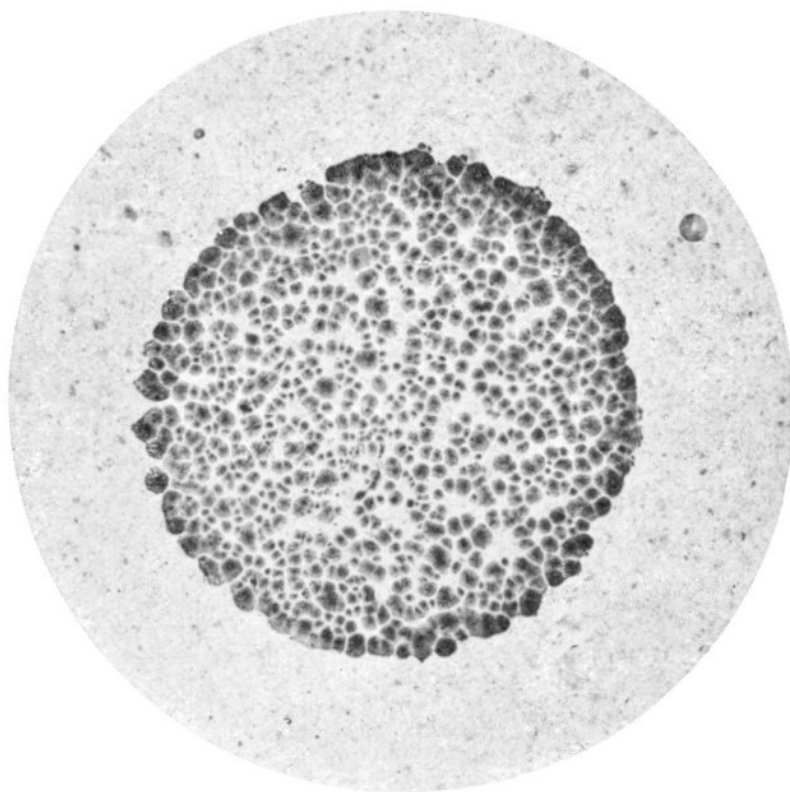


Fig. 4. - Tipo di policolonia di streptococco.

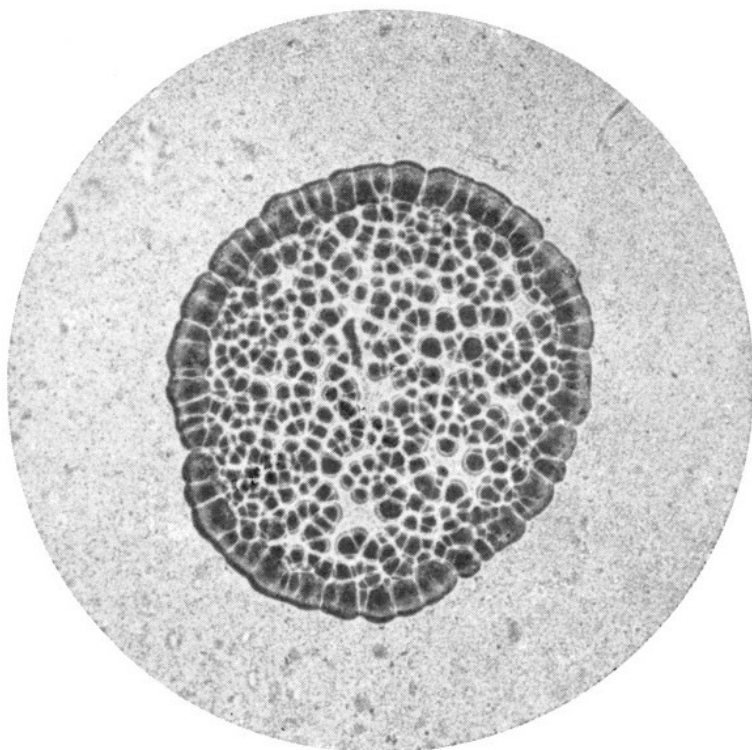


Fig. 5. - Secondo tipo di policolonia di streptococco.

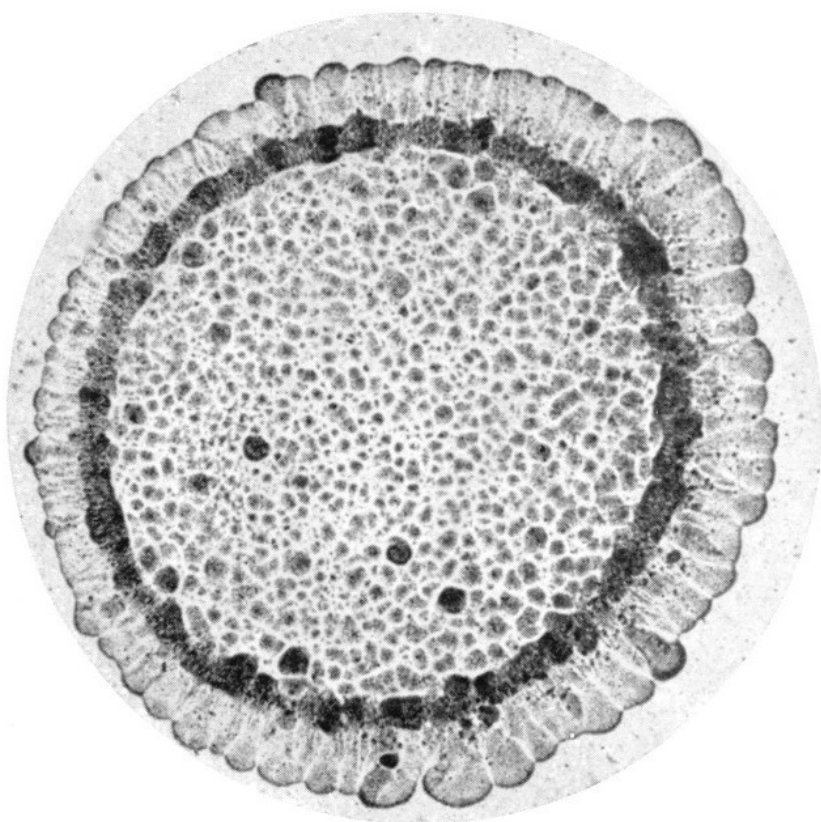


Fig. 6. - Terzo tipo di policolonia di streptococco.

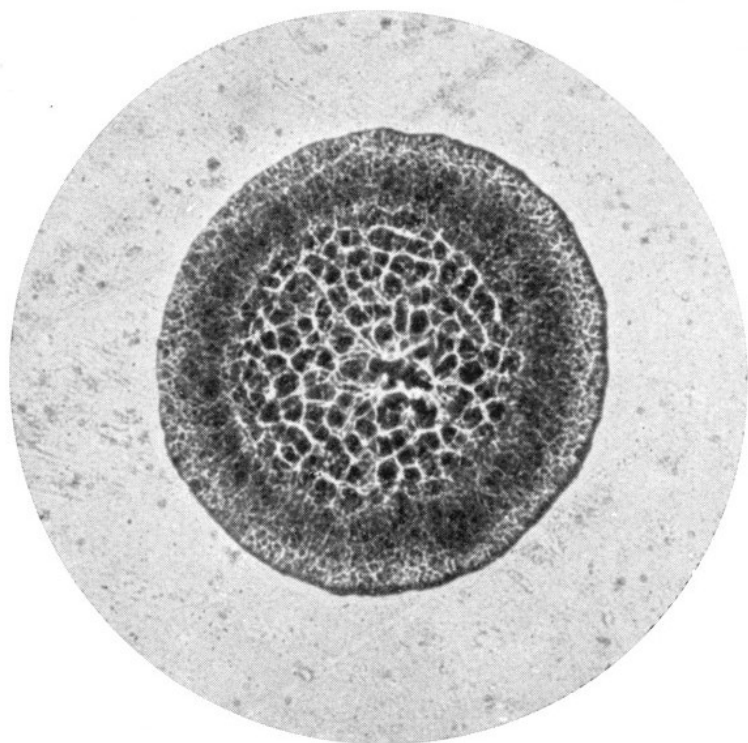


Fig. 7. - Tipo di policolonia di tifo.

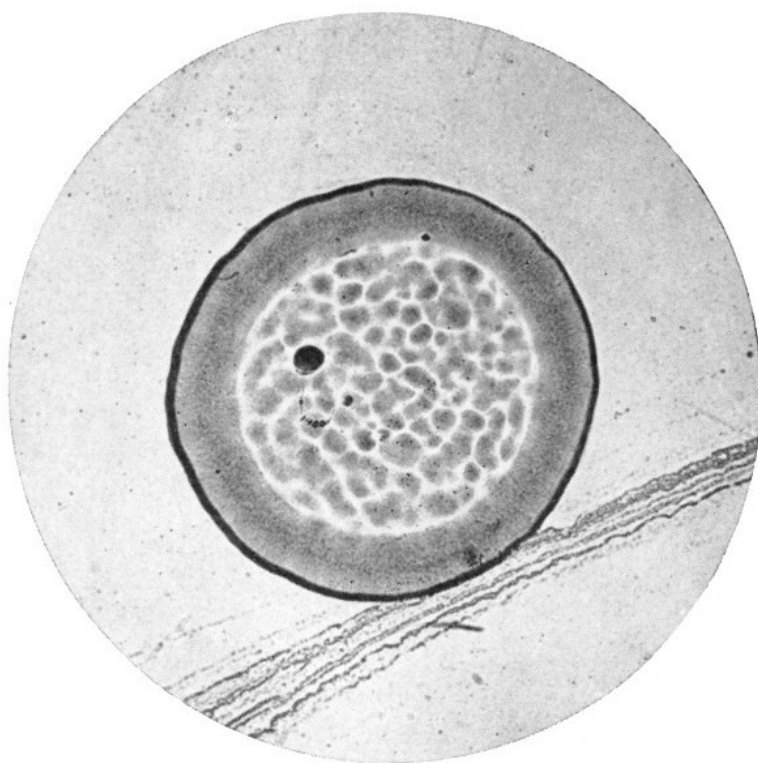


Fig. 8. - Altro tipo di policolonia di tifo.

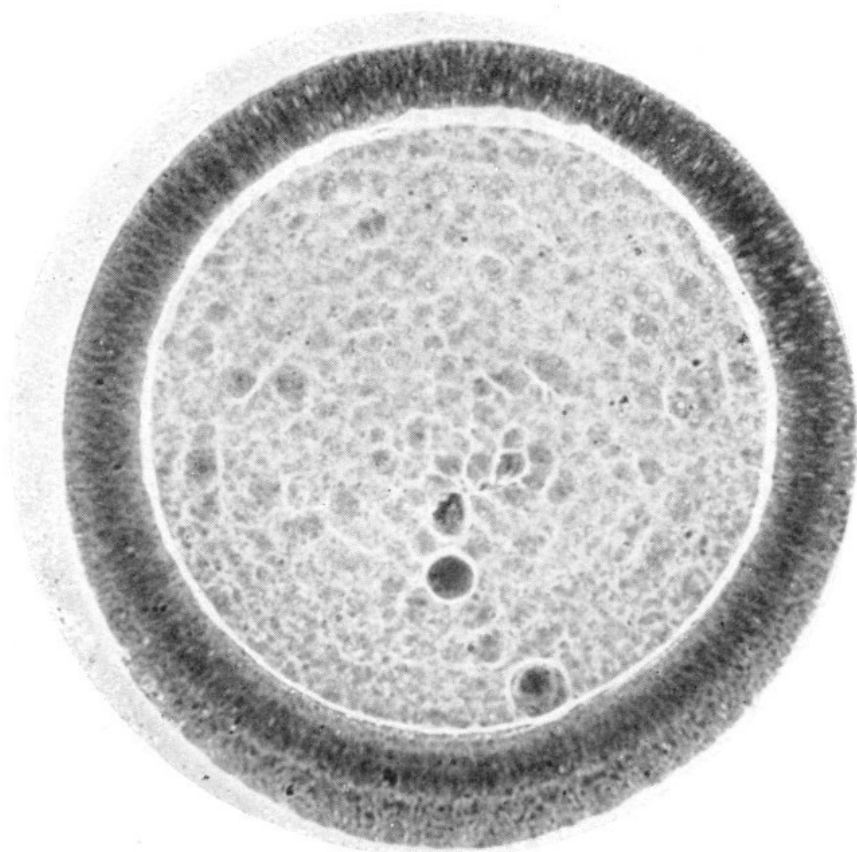


Fig. 9. - Terzo tipo di policolonie di tifo.

Come sospensione madre di germi è necessario procedere per gradi; per alcune specie è conveniente adoperare brodoculture di 18-24 ore; per altre, la cui soglia di patina è molto bassa, conviene prendere brodoculture di 6-8 ore o diluire convenientemente brodoculture più vecchie. Conoscendo la soglia di patina di un germe, conviene prendere una sospensione contenente un numero di germi leggermente superiore alla soglia stessa.

Deposte, dunque, le goccioline sulla superficie dell'agar — con una sola pipettata se ne possono deporre molte decine — si copre la piastra, si lascia essicare un tantino, poi le piastre si capovolgono e si mettono in termostato. Dopo 12, 24 o più ore di termostato (a seconda della specie batterica) le piastre sono pronte per l'osservazione.

Di primo acchito — specie a un occhio inesperto o a persona che non conosca la tecnica impiegata — potrebbe sembrare di scorgere una serie di colonie tondeggianti di aspetto più o meno solito. Un accurato esame completato da una osservazione microscopica a lieve ingrandimento, mostrerà come quell'apparente unica colonia sia invece un seminio di minuscole colonie non tutte eguali tra loro e limitate da una o più serie di cerchi concentrici costituiti da altre colonie di particolare struttura.

La tipica disposizione delle miriadi di colonie non avviene a caso, nel senso che ad ogni semina si hanno configurazioni diverse, ma si ripete sempre con uguali caratteristiche e a distanza di tempo: si tratta, cioè, di un fatto statisticamente costante, identico per molti ceppi di una stessa specie microbica, mentre può essere anche diverso per diversi ceppi di una stessa specie, il che può far sorgere la speranza che con la tecnica suddescritta si venga a disporre di una nuova arma per la differenziazione morfologica di varietà batteriche.

Esaminiamo un po' più da vicino il fenomeno.

Seminata la microgoccia sull'agar e lasciata incubare per il tempo voluto si ha, dicevo, un seminio di colonie a superficie circolare, seminio che, nel suo insieme, dà luogo a una configurazione caratteristica.

Tale configurazione è per solito costituita da un'ampia zona centrale e da una zona marginale a struttura più o meno varia. La zona centrale è formata da una costellazione di minuscole colonie cresciute alla rinfusa e che di solito sono a superficie trapezoidale, poligonale, mai circolare.

Nell'insieme, la massa delle minuscole colonie ricorda la pavimentazione delle antiche strade romane.

La zona marginale è per lo più costituita da uno o più strati concentrici dei quali il più esterno è spesso fuso in un anello a volte sepimentato.

Come si può arguire dalla descrizione e dalle microfotografie (figure 4-9) che allego, l'aspetto di tale insieme di colonie costituisce una configurazione così caratteristica e così strutturalmente armonica, da doverla ritenere quasi come una manifestazione non dico fisiologica, ma normale e tipica per un determinato germe.

A tale configurazione io ho posto il nome di « *policolonia* ».

Policolonia, giacchè essa è realmente una colonia di molti nuclei familiari i quali, vivendo l'uno accanto all'altro, s'influenzano a vicenda.

Esaminiamo, ora, una policolonia e cerchiamo d'interpretare la genesi della sua configurazione.

Una policolonia è di solito composta, come abbiamo già detto, da una zona centrale e da una periferica: nella porzione centrale vi è una costellazione di colonie più o meno ravvicinate e sempre distinte; alla periferia, invece, si osserva quasi sempre un anello in cui le colonie confluiscono in maniera varia.

Al centro, evidentemente, non si raggiunge la soglia di patina, mentre alla periferia sì. E ciò è una dimostrazione indiretta che la soglia di patina è in rapporto col numero dei germi presenti nell'unità di spazio.

Nella deposizione, infatti, della goccia sulla superficie dell'agar, la goccia stessa si schiaccia e i germi in essa contenuti vengono in parte spinti, per tensione superficiale, verso il margine di adesione della semigoccia con l'agar. Su questo margine si otterrà, così, un anello di liquido contenente un numero di germi maggiore che nel resto della goccia dove i germi rimasti finiscono col sedimentare.

Patina alla periferia, dunque, e colonie separate al centro; colonie, però, non circolari, nè d'aspetto tipico, ma colonie poligonali e con i lati di ogni poligono affrontanti quelli di un altro: chiara dimostrazione della reciproca influenza esercitata da una colonia sull'altra.

L'interesse di queste policolonie sta poi nel fatto che i germi della stessa specie non si comportano tutti nella stessa maniera, ma, come già più sopra ho accennato, essi possono dar luogo a due o più tipi di policolonie, evidente dimostrazione dell'esistenza di determinate varietà.

Non voglio, in questo mio lavoro, scendere in particolari, avendo esso lo scopo di illustrare semplicemente il nuovo fenomeno osservato. Tuttavia, a titolo di documentazione, presento alcune microfotografie di policolonie di streptococchi e di tifo.

Le policolonie di streptococchi che presento sono le rappresentanti dei tre tipi di streptococchi che ho potuto individuare con questo metodo in due anni di osservazione. Nel primo tipo (figura 4) la policolonia è composta di colonie tutte isolate; nel secondo tipo (fig. 5) la policolonia presenta un anello periferico ben sepimentato; nel terzo tipo (fig. 6) la policolonia presenta due anelli periferici di diverso spessore (la maggiore colorazione dell'anello interno è soltanto apparente essendo dovuta al diverso fuoco dei due anelli rispetto alla lastra fotografica).

Aggiungerò ancora che le caratteristiche dei tre descritti tipi di policolonie si conservano nel tempo, e che i tipi in questione si possono indifferentemente osservare sia negli streptococchi tipo *viridans* che in quelli tipo *haemolisans*.

Riproduco ancora tre tipi di policolonie di *Salmonella typhosa*. Nel primo tipo si ha una netta contiguità (fig. 7) tra colonie interne ed anello esterno; nel secondo tipo non si ha contiguità (fig. 8); nel terzo tipo, infine, si ha, tra anello esterno e colonie interne, un anello sterile molto caratteristico (fig. 9). I ceppi O danno colonie isolate sempre prive di anello esterno.

Come si vede da questi pochi esempi — ripeto che è stata mia intenzione rimanere sulle generali — la policolonia non è soltanto una configurazione batterica fine a se stessa, ma una entità che può permetterci di porre diagnosi differenziali tra varietà di stessi ceppi.

Roma. — Istituto Superiore di Sanità - Laborat. di microbiologia. 20 marzo 1948.
