

42. Brenno BABUDIERI. — L'azione antibatterica di alcuni antibiotici, studiata col microscopio elettronico.

Riassunto. — L'A. studia al supermicroscopio elettronico, l'azione di alcuni antibiotici su di una numerosa serie di germi. Egli descrive le alterazioni morfologiche che tali sostanze inducono nei microorganismi, e le accosta a quelle che si manifestano abitualmente nei germi che si sviluppano in un ambiente per loro poco adatto.

Résumé. — L'A. étudie au microscope électronique l'action de quelques antibiotiques sur une nombreuse série de germes. Il décrit les altérations morphologiques que ces substances provoquent sur les microorganismes et les compare avec celles qui se manifestent usuellement dans les germes se développant dans un milieu peu favorable.

Summary. — The A. studies under the electron microscope the action of some antibiotics on a numerous series of germs. He describes the morphological changes induced by such substances in micro-organisms and compares them with those which usually manifest themselves in germs developing in an unfavourable medium.

Zusammenfassung. — Der Verfasser erforscht mit Hilfe des Elektronenmikroskopes die Wirkung einiger Antibiotika auf eine zahlreiche Serie von Keimen. Er beschreibt die morphologischen Veränderungen, welche jene Substanzen in den Mikroorganismen hervorrufen und vergleicht sie mit jenen, die gewohnheitsgemäss in den Keimen erscheinen, welche sich in einem für sie ungeeignetem Milieu entwickeln.

E' ormai generalmente accettato che la penicillina e la maggior parte degli altri antibiotici, hanno una duplice azione. Essi sono batteriostatici se a concentrazione relativamente bassa; sono battericidi se a concentra-

zione maggiore. La batteriostasi non si esplica però con un completo arresto dell'attività vitale del germe, neppure sotto l'azione di dosi abbastanza considerevoli dell'antibiotico. In realtà la massa batterica si ac-

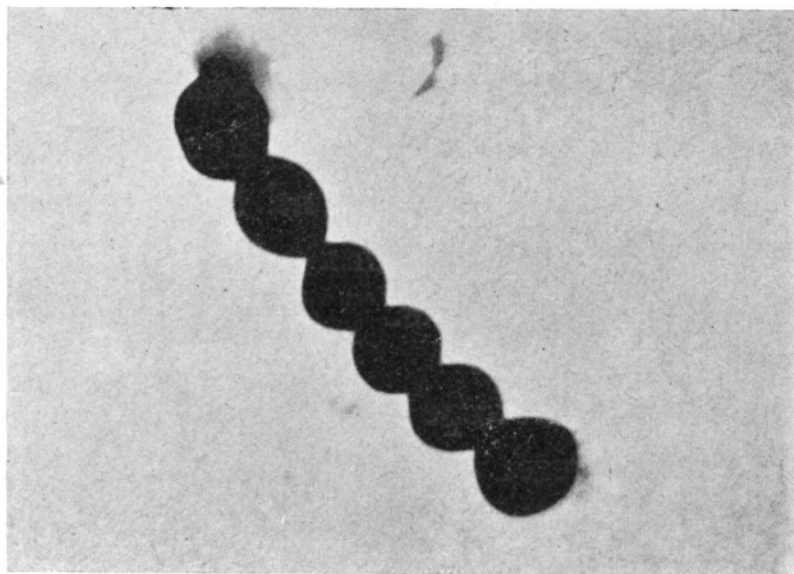


FIG. 1. — Staph. aureus, normale

cresce, almeno in un primo tempo, pressochè normalmente (aumento dell'indice opacimetrico nella prima fase del trattamento penicillinico di una cultura), indizio questo di una relativa integrità della capacità assimilativa del germe; è invece fortemente, se anche non sempre assolutamente,

inibita la capacità riproduttiva degli organismi batterici.

Morfologicamente questi fenomeni di batteriostasi relativa si manifestano con la comparsa di forme giganti, di forme filamentose e mostruose di germi, che infine vanno incontro a fenomeni evidenti di batteriolisi. Questi aspetti morfologici sono stati già ripetutamente descritti e rimando per ciò ai lavori di Altur-Werber e Coll. ⁽¹⁾, a quelli di Fleming ⁽²⁾,

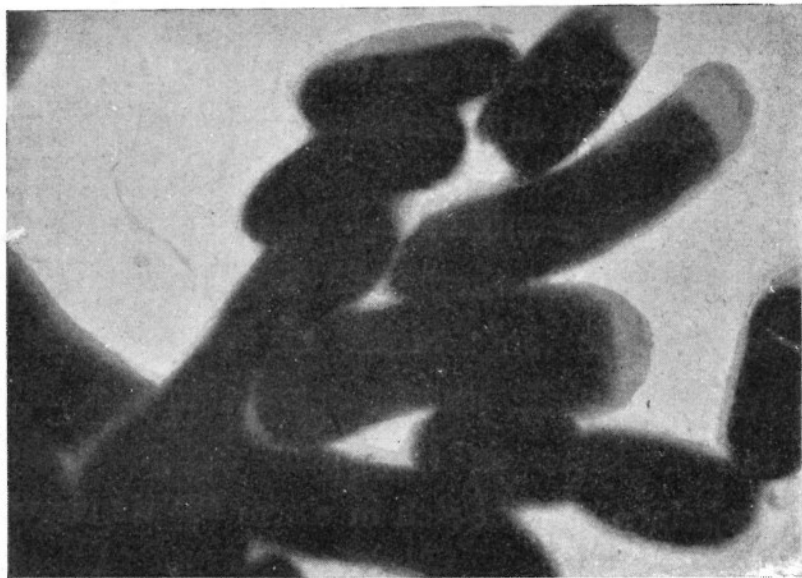


FIG. 2. — E. typhi, normale

⁽¹⁾ ALTUR WERBER E.-LIPSCHITZ R.-KASHDAN F.-ROSENBLATT Ph., The effect of incompletely inhibitory concentrations of penicillin on Escherichia coli. - J. of Bacteriol. (1945) 50, 291.

⁽²⁾ FLEMING A., Penicillin - London (1946).

di Frey ⁽³⁾ di Gardner ⁽⁴⁾, e fra gli italiani, a quello di Vacirca ⁽⁵⁾.

Poichè però questi lavori sono stati eseguiti in base alla sola osservazione per mezzo del microscopio ottico, ho ritenuto interessante ripetere queste osservazioni impiegando il supermicroscopio elettronico di cui dispone il nostro Istituto.

I germi usati nelle mie ricerche sono stati i seguenti:

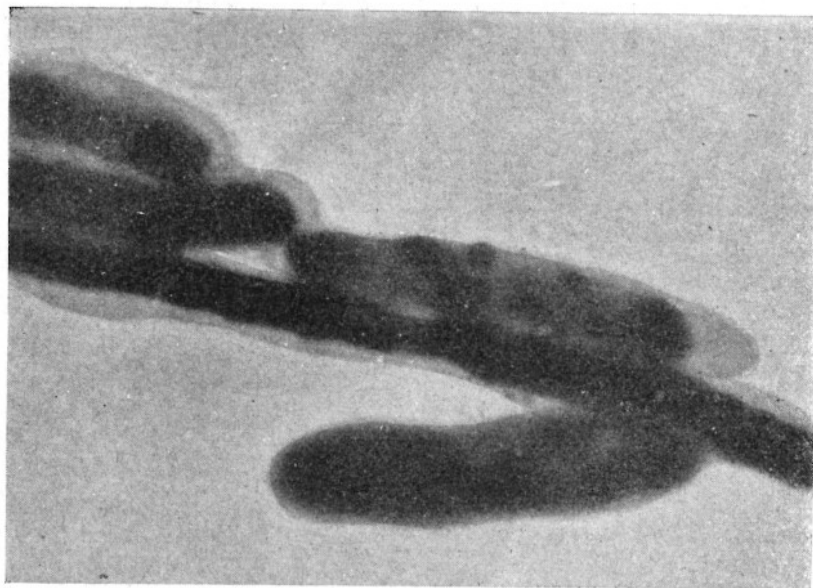


FIG. 3. — *E. typhi* + 8 U.O. di penicillina

Staphilococcus aureus, ceppo Oxford;

Eberthella typhi, ceppo Vi 1;

Escherichia coli, ceppo 3;

Bacillus anthracis, ceppo Veter. V.;

Bacillus subtilis, ceppo Olivier;

Brucella melitensis, ceppo I.S.S.;

Bacterium rhinoscleromatis, ceppo I. Igiene;

Proteus vulgaris, ceppo X 19;

alcuni ceppi di dissenterici;

un ceppo di spirillo acquatile;

Leptospira dell'acqua, ceppo AM8;

Leptospira Sejroe, ceppo M84;

Leptospira hebdomadis, ceppo I. Pasteur.

Gli antibiotici impiegati in queste ricerche sono stati i seguenti:

Penicillina cristallizzata;

Streptomina cristallizzata Merck;

Streptotricina impura di mia preparazione;

⁽³⁾ FREY H., Characteristic morphological changes in *Bacillus fusiformis* in the course of penicillin treatment. - Brit. Dental J. (1947), 82, 135.

⁽⁴⁾ GARDNER A. D., Morphological effects of penicillin on Bacteria. Nature (1940).

⁽⁵⁾ VACIRCA F., Un nuovo fenomeno di lisi batterica da aminoacidi e da estratti di *B. subtilis*. Ann. d'Ig. (1947), 57, 22.

Expansina semipurificata dei Laboratori Brocades;
Subtilina impura di mia preparazione.

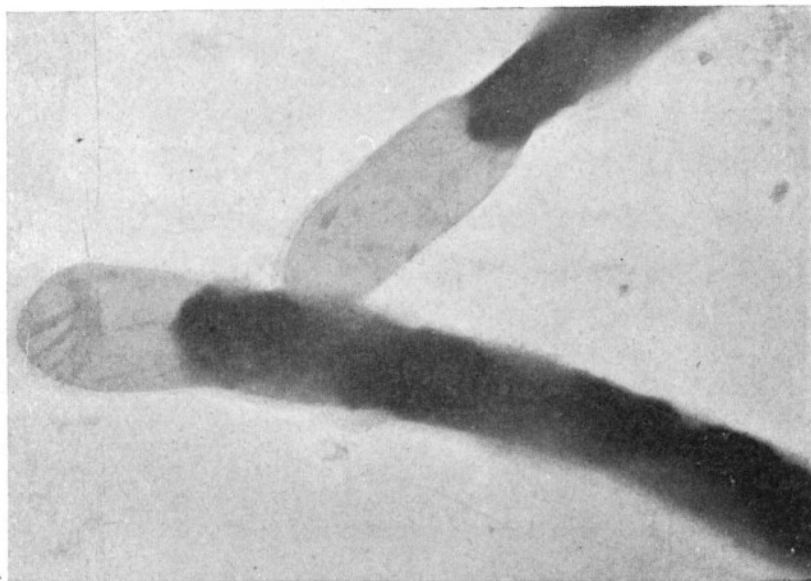


FIG. 4. — *E. typhi* + 1,6 U.O. di penicillina

La tecnica dell'al-
lestimento dei prepara-
ti per l'osservazione al
microscopio elettronico
è quella abituale, già
descritta in precedenti
lavori. Come fissatore
ho usato però solamente
l'acido osmico, esclu-
dendo la formalina, ciò
per evitare errori dovuti
ad eventuali alterazioni
batteriche causate da
quest'ultima sostanza.

Le mie ricerche si proponevano di studiare due gruppi di fenomeni:
1) le alterazioni indotte nei germi da dosi subinibenti di antibiotico, 2) le
alterazioni indotte nei
germi da dosi massive,
batteriostatiche e batte-
ricide di antibiotico.
Era da presumersi che
nei due casi le altera-
zioni potessero essere
diverse non soltanto
quantitativamente, ma
anche qualitativamente.

Per indagare il
primo ordine di feno-
meni procedevo nel se-

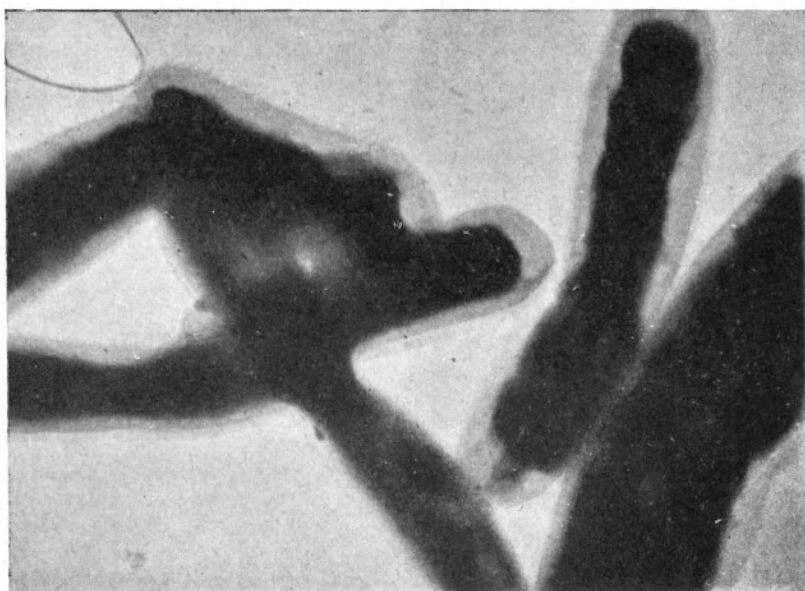


FIG. 5. — *E. typhi* + 1,6 U.O. di penicillina

guente modo: Eseguivo del germe in esame tre o quattro successivi pas-
saggi in brodo, ad intervalli di 12 ore, per eliminare praticamente tutte
le forme batteriche senescenti, e quindi eseguivo un ultimo insemenza-
mento in una provetta di brodo contenente una dose solo parzialmente
batteriostatica dell'antibiotico. Tale dose veniva determinata in precedenza

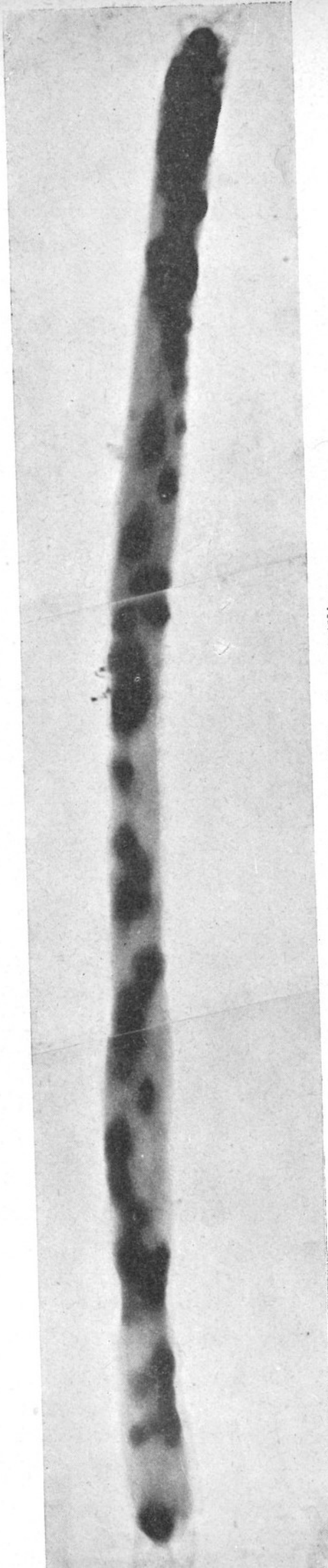


FIG. 7. — *E. typhi* + 1.6 U.O. di penicillina

ed era quella capace di dare una inibizione tale che la cultura in brodo, di 24 ore, mostrasse appena un minimo intorbidamento.

Per indagare il secondo ordine di fenomeni aggiungevo invece ad una cultura in brodo, vecchia di 24 ore, una dose di antibiotico capace di dare batteriostasi completa.

L'osservazione delle culture veniva fatta in genere dopo 24 ore, alle volte anche prima o più tardi, a seconda dei casi.

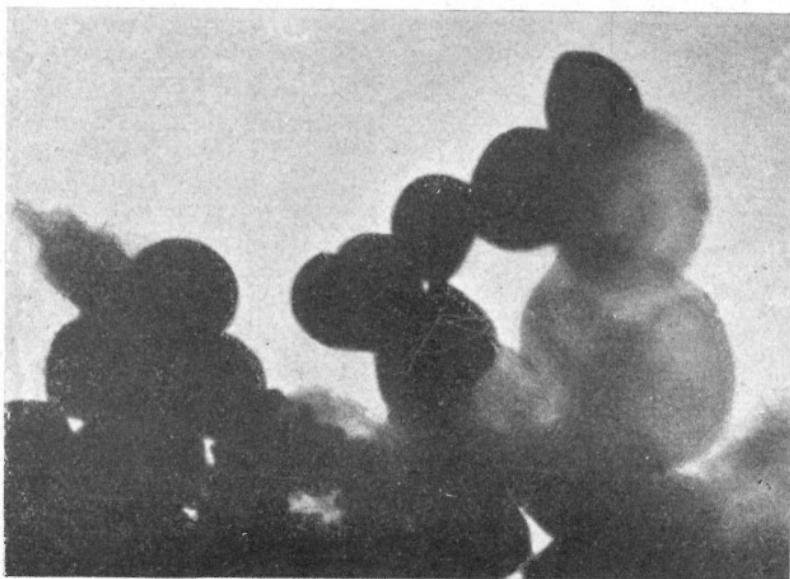


FIG. 6. — Staph. aureus + 1 U.O. di penicillina

L'esame al microscopio elettronico veniva fatto con l'ausilio dei Proff. Trabacchi e Bocciarelli, costruttori del microscopio stesso, che son lieto di ringraziare per la loro preziosa assistenza.

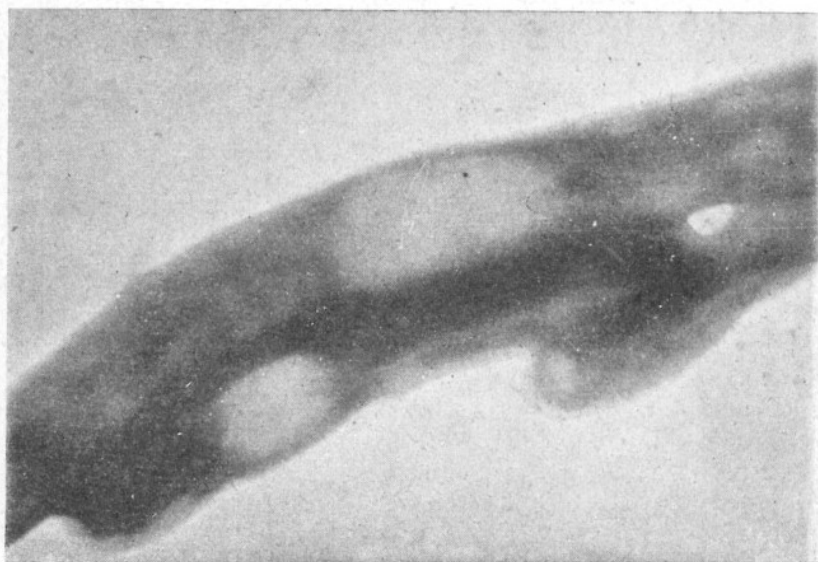


FIG. 8. — E. typhi + 4 U.O. di penicillina

Prima di descrivere i reperti ottenuti, è opportuno dire qualche cosa dell'aspetto morfologico normale dei germi, come appaiono all'osservazione supermicroscopica.

E' nota la distinzione che Ruska ⁽⁶⁾ e Piekarski ⁽⁷⁾ fanno, di tre stadi successivi nello sviluppo di un germe. Nel primo stadio il microorganismo appare uniformemente opaco, e la sua membrana è invisibile

⁽⁶⁾ RUSKA M., Morphologische Befunde bei der bakteriophagen Lyse. Arch. f. Virusforsch., 2, 345 (1942).

⁽⁷⁾ PIEKARSKI G., Cytologische Untersuchungen an Paratyphus und Colibakterien. Arch. f. Mikrobiol., 8, 428 (1937).

o solo scarsamente visibile. Nel secondo stadio la membrana si visualizza bene e il protoplasma incomincia a mostrare delle zone meno opache

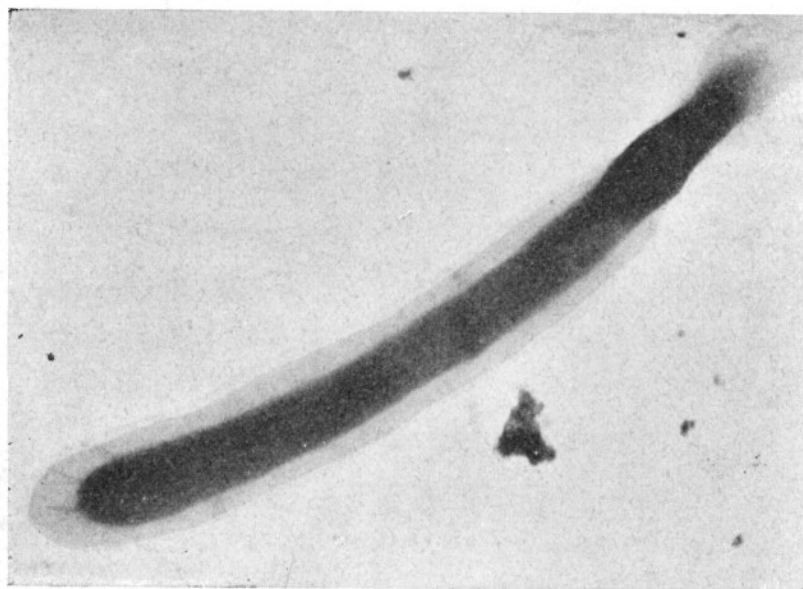


FIG. 9. — *E. coli* + streptomicina

che il resto. Nella terza fase infine (germi senescenti) nel protoplasma, notevolmente diafano, si differenziano ammassi di protoplasma opaco, di solito di forma granulare, spesso nucleosimili. E' però da notarsi che, secondo Ruska e Piekarski, queste formazioni non hanno nulla a che fare con even-

tuali formazioni nucleoidi del germe: il nucleo non sarebbe infatti differenziabile al microscopio elettronico.

E' da rilevarsi che, all'infuori che nelle culture vecchie di alcuni giorni, dove tutti i germi presentano o aspetti degenerativi o forme del terzo stadio, nelle culture recenti, comprendenti germi in fase evolutiva, non si trovano mai esclusivamente forme appartenenti al primo tipo, bensì i tre tipi

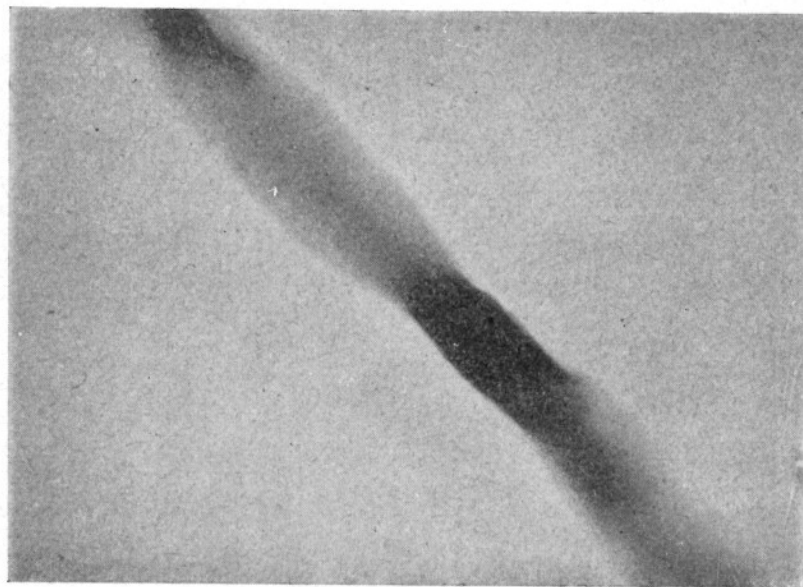


FIG. 10. — *E. typhi* + 16 U.O. di penicillina

sono contemporaneamente presenti, con prevalenza di quello primo o quello secondo, a seconda dell'età della cultura e della velocità riproduttiva del germe.

Il reale significato di queste tre fasi, e specie delle due prime, rispetto all'età del germe e alla sua capacità riproduttiva, non è stato finora sufficientemente indagato, e ciò si comprende bene qualora si con-

siderino le difficoltà cui si va incontro. Infatti se è possibile conoscere la età di una cultura, non è del pari possibile determinare l'età di un germe. In una cultura di alcune ore noi troveremo tanto germi che sono prodotto di una divisione avvenuta pochi secondi prima, quanto germi vecchi di alcuni minuti o fors'anche di qualche ora. E' assurdo perciò volere identificare l'età di un germe con quella di una cultura.

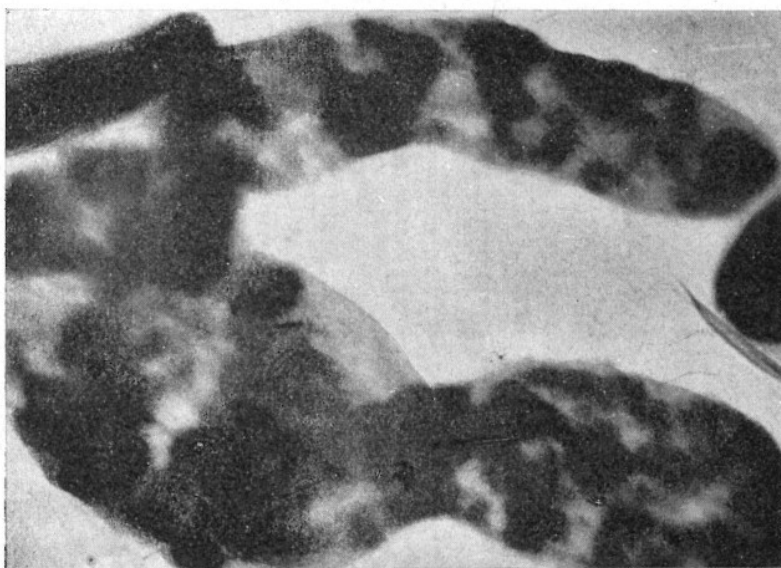


FIG. 11. — *P. rhinoscleromatis* + 80 U.O. di penicillina

Per di più quando un germe si riproduce, non sappiamo se nel protoplasma dei due germi che ne derivano avvenga sempre un processo di ringiovanimento e, nel caso in questione, una retrocessione dalle due ultime fasi a quella prima.

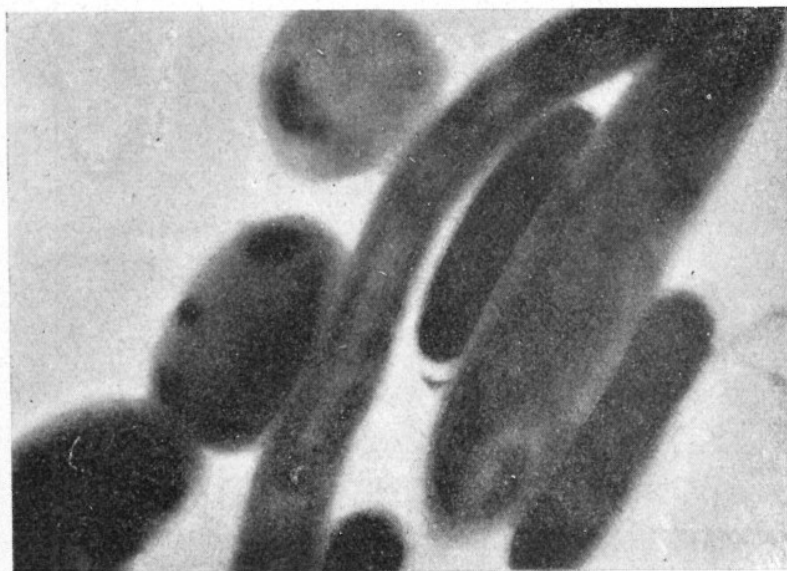


FIG. 12. — *E. typhi* + 5 U.O. di penicillina

Ad ogni modo si deve rilevare che all'osservazione supermicroscopica capita di osservare forme batteriche in divisione appartenenti a tutte e tre le fasi, se anche con maggiore frequenza per le due prime. Ciò fa ritenere che, secondo ogni verosimiglianza, il germe può conservare la sua capacità riproduttiva in tutte e tre le sue fasi e che non sempre si ha, nella riproduzione, un ringiovanimento del protoplasma, per lo meno nel senso inteso da Ruska e Piekarski.

Soltanto di germi sottoposti ad un'azione batteriostatica, e quindi incapaci di riprodursi, sarebbe possibile determinare l'età, ma in questo

caso alle modificazioni morfologiche dovute alla senescenza naturale, si possono sovrapporre quelle specifiche dovute all'azione del batterio-

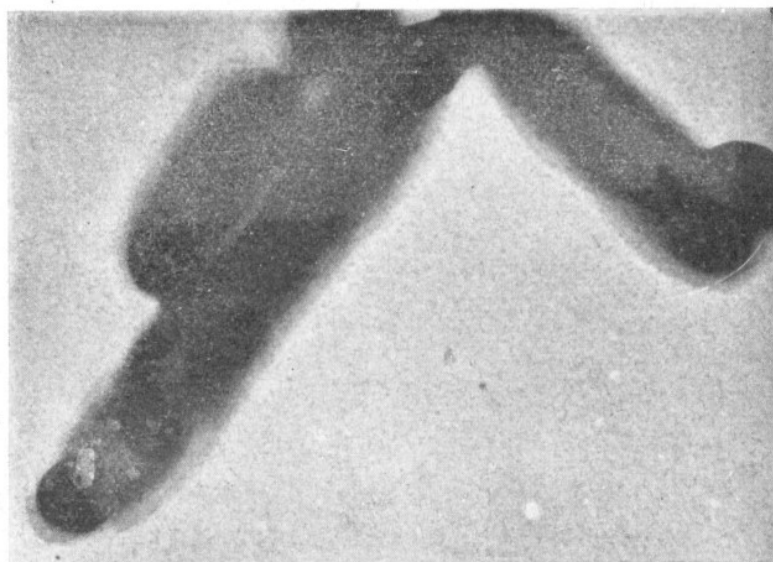


FIG. 13. — *E. coli* + streptomicina

statico che, in quanto tale, si deve supporre non indifferente, nè innocuo per il germe.

I risultati ottenuti nei vari germi presi in considerazione e con i diversi antibiotici studiati sono, nelle loro grandi linee, molto simili.

Perciò prenderò come base gli effetti pro-

dotti dalla penicillina, l'antibiotico che ho maggiormente studiato, accennando infine ad alcune particolarità proprie degli altri antibiotici.

Se si fanno crescere dei germi (fig. 1, fig. 2) in una provetta di brodo contenente dosi subinibenti di penicillina, si constata in primo luogo un allungamento abnorme dei germi stessi (fig. 3). Contemporaneamente si assiste, nei bacilli, ad una visualizzazione della membrana (figg. 4, 7) che



FIG. 14. — *E. typhi* + 1,6 U.O. di penicillina

inizia ai poli batterici, dove essa forma una sorta di cappuccio vuoto di protoplasma. Più tardivamente e non costantemente, la membrana si differenzia lungo tutto il corpo batterico (figg. 3, 5), come se il protoplasma si fosse represso o se la membrana si fosse staccata da questo per assorbimento di liquido nello spazio subcuticolare. E' da notarsi che nel

caso dello stafilococco aureo da me studiato, questa visualizzazione della membrana manca (fig. 6).

In seguito l'allungamento del corpo batterico aumenta sì che il germe può raggiungere dimensioni notevolissime (fig. 7). Il suo protoplasma resta però quasi sempre piuttosto opaco, e solo di rado contiene qualche vacuolo ovalare (fig. 8). Nei cocci si ha un ingrossamento del germe (figura 6).

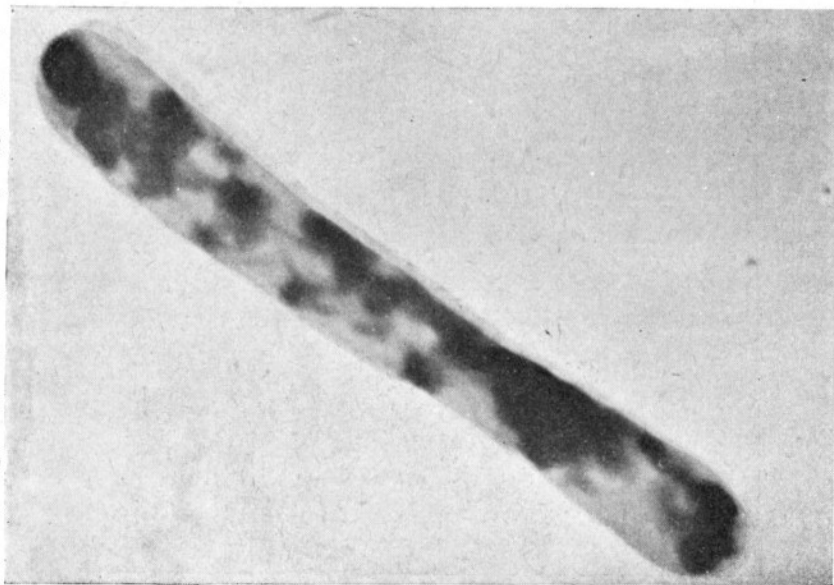


FIG. 15. — *Proteus vulgaris* + 2 U.O. di penicillina

Il diametro trasverso del batterio aumenta pure, per lo più in mi-

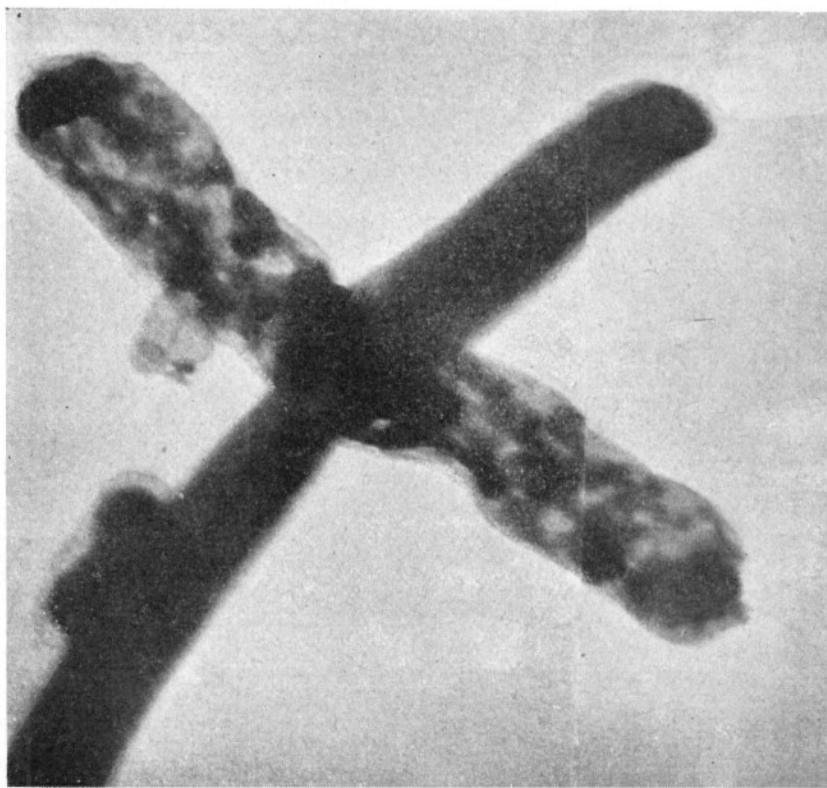


FIG. 16. — *E. typhi* + 1,6 U.O. di penicillina

sura limitata, e qualche volta non in maniera uniforme, ma soltanto limitatamente ad alcuni tratti del corpo batterico (figure 9, 10). In qualche caso, e più tardivamente, il germe si rigonfia enormemente, assumendo aspetti ovalari e globosi (fig. 11). In tali casi quasi sempre la membrana batterica non è visibile e il protoplasma si diafanizza in maniera irregolare.

Più avanti si trovano nelle culture aspetti evidenti di batteriocidia

e di batteriolisi. Tali fenomeni avvengono quasi sempre a carico di germi che hanno subito i sopradescritti allungamenti e rigonfiamenti, ma alle volte colpiscono anche germi di dimensioni normali (fig. 12).

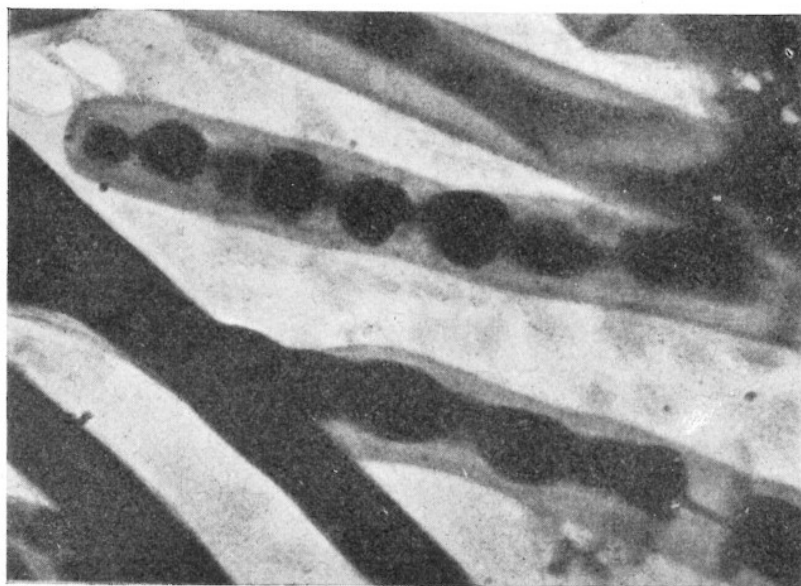


FIG. 17. — *B. anthracis* + 10 U.O. di penicillina

in corrispondenza delle parti rigonfie del protoplasma quando tale rigonfiamento è limitato ad alcuni segmenti soltanto del corpo batterico (figura 10).

Il protoplasma si rischiara alle volte in maniera piuttosto uniforme (figg. 6, 14), alle volte invece irregolarmente (figg. 15, 16). In alcuni casi, e specie nel carbonchio, il protoplasma si addensa in sferette opache, più o meno congiunte fra di loro (fig. 17); più spesso invece si spezzetta



FIG. 18. — *E. typhi* + 1 U.O. di penicillina

in blocchetti irregolari, notevolmente opachi e a limiti più o meno netti (figg. 15, 16). Quasi mai si hanno aspetti del tutto corrispondenti a quelli dei germi in fase terziaria di Ruska e Piekarski (comparsa di granuli grossi, regolari, a limiti netti). Talvolta il protoplasma, ancora opaco, presenta delle chiazze periferiche chiare, a colpo d'unghia (fig. 18).

Nella fase finale della lisi resta del germe una membrana quasi vuota, contenente solo scarse masserelle più o meno opache di protoplasma (figg. 19, 20). Non si nota mai una rottura o alterazioni profonde della membrana, nè una fuoriuscita del protoplasma attraverso a questa, pur dovendosi necessariamente ammettere l'esistenza di profonde modificazioni della permeabilità di tale membrana. Tutte queste alte-



FIG. 19. — *E. typhi* + 8 U.O. di penicillina

razioni non colpiscono contemporaneamente ed in misura uguale tutti i germi della medesima cultura: accanto a forme profondamente alterate si trovano sempre germi perfettamente normali o solo lievemente alterati (figg. 16, 21).



FIG. 20. — *E. typhi* + 8 U.O. di penicillina

Le alterazioni non sono sensibilmente diverse se, invece di far crescere i germi in un ambiente contenente dosi subinibenti di penicillina, noi aggiungiamo dosi massive dell'antibiotico a culture di 24 ore. Le prime alte-

razioni compaiono dopo oltre 4 ore dall'aggiunta dell'antibiotico ed esse consistono prevalentemente in aspetti di plasmoresi e di plasmolisi, mentre sono più rare le forme straordinariamente ingrossate o allungate, e ciò evidentemente in rapporto alla diminuita attività metabolica dei germi in una cultura relativamente vecchia,

Accennerò ancora che nel giudicare gli effetti di un antibiotico su di un determinato germe, conviene non trascurare il controllo delle

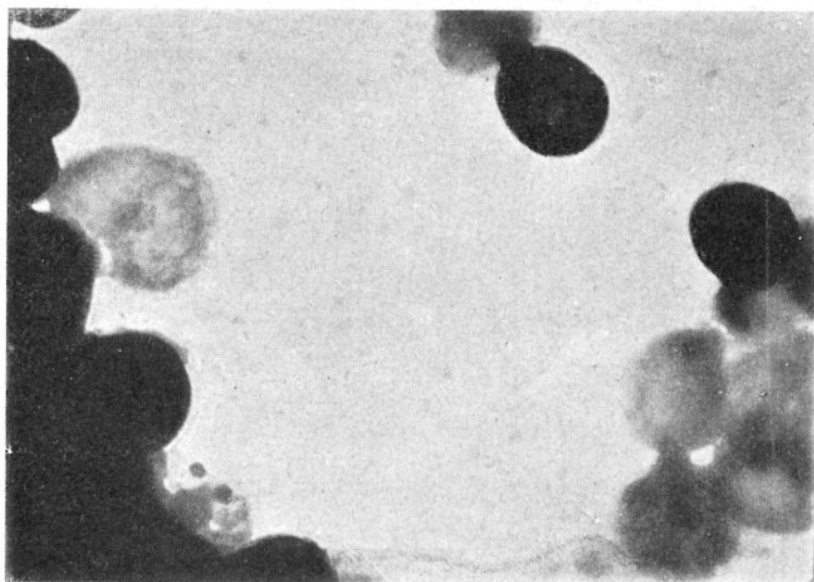


FIG. 21 — *Staph. aureus* + 1 U.O. di penicillina

culture normali. Infatti le dimensioni e l'aspetto dei germi sono tutt'altro che uniformi, e non soltanto nel caso del *Proteus*, com'è ben risaputo (fig. 22); ma anche in altri casi, e specie nei dissenterici, troviamo anche in culture giovani e sviluppatesi in ambiente ben favorevole, una notevole varietà di dimensioni

e di aspetti. Mancano però qui sia gli eccessi nell'accrescimento del corpo batterico, sia i fenomeni di plasmoresi e di plasmolisi. Passando ora a descrivere le alterazioni dei varî germi studiati, diremo che quelle del bacillo tifico, del coli, del *proteus* e dei dissenterici corrispondono a quanto ho sopra descritto. Particolarmente belle sono le forme in lisi del bacillo tifico (figg. 37-39), e particolarmente evidenti sono le forme di diafanizzazione centrale del protoplasma in *B. coli*.

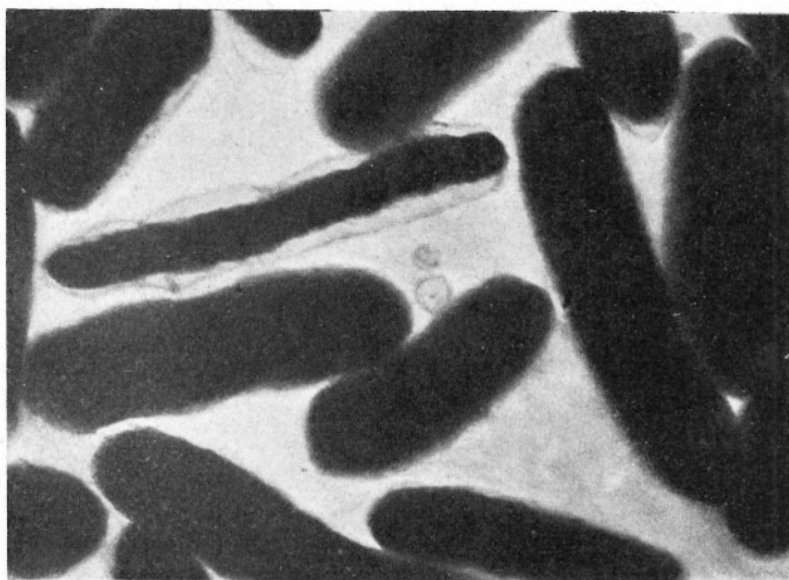


FIG. 22. — *Proteus vulgaris* normale: cultura di 24 ore

Nei germi che ne sono provvisti, non si nota sotto l'azione degli antibiotici, alcuna alterazione dell'apparato ciliare. Lo stesso è di quella particolare sostanza di aspetto raggiato, che circonda il *B. del rinosce-*

roma, e che attribuisce alle culture di questo germe la loro caratteristica vischiosità (fig. 23).

Negli stafilococchi, come ho già detto, non si assiste mai ad una evidente visualizzazione della membrana. Anche negli stadi più avanzati di rigonfiamento e di lisi non vi è mai un netto distacco tra membrana e protoplasma. Ricordo invece che nel caso di un cocco dell'aria sottoposto all'azione del Lysozym



FIG. 23. — *B. rhinoscleromatis* + 80 U.O. di penicillina

e studiato da me e Bietti ⁽⁸⁾, la membrana diveniva bene evidente.

E' da rilevarsi inoltre che nel caso dello stafilococco non si assiste

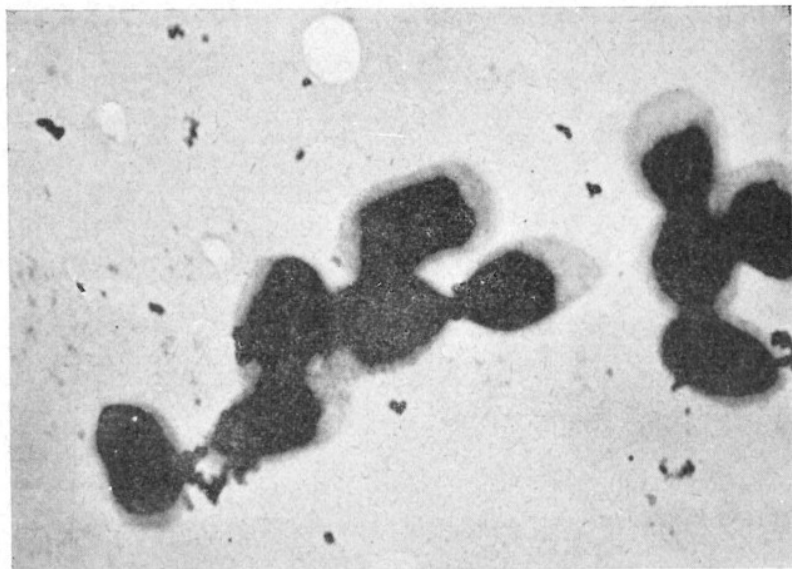


FIG. 24. — *Brucella melitensis* normale

mai ad uno spezzettamento del protoplasma in piccoli blocchi ben individuati, ma che si ha soltanto una diafanizzazione non uniforme del protoplasma, alle volte mostruosamente rigonfiato.

Nelle Brucelle le alterazioni indotte dalla penicillina, come del resto già rilevato da Gardner, sono molto

più scarse che negli altri germi studiati, e si limitano ad uno scarso rigonfiamento del corpo batterico, che mantiene la sua opacità (figg. 27, 25).

⁽⁸⁾ BABUDIERI B., BIETTI G., BOCCIARELLI D., La batteriolisi prodotta dal « lysozym » lacrimale studiata al supermicroscopio elettronico, Rend. Ist. Sup. Sanità, 7, 604 (1944).

Nel bacillo carbonchioso è da rilevarsi la comparsa, già ricordata, di sferette regolari, opache (fig. 17).

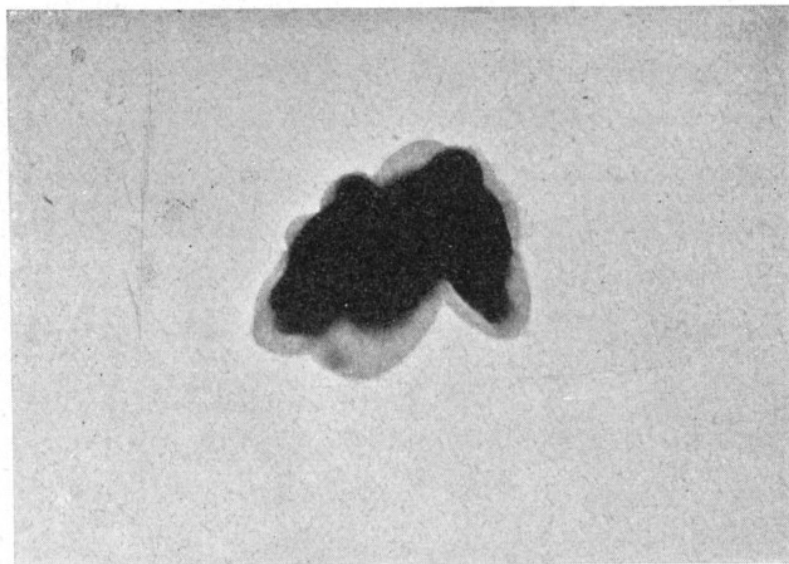


FIG. 25. — *Brucella melitensis* + 10 U.O. di penicillina

Negli spirilli (fig. 26) si notano, oltre alla presenza di elementi lunghissimi, spirochetiformi, opachi o diafani (fig. 27), la comparsa di grosse sfere, un po' irregolari, che non conservano più nulla dell'aspetto originario del germe (fig. 28). Forme simili sono state osservate col microscopio ottico, da

Frey (³), in *B. fusiformis* sottoposto all'azione della penicillina. Come è noto tale germe è considerato da parecchi come un particolare aspetto di una spirocheta della bocca.

Nelle leptospire non si nota mai un allungamento sensibile del germe, ma tutt'al più un modico aumento del loro diametro trasverso. Dosi più alte dell'antibiotico portano a un assottigliamento non uniforme della spirocheta e alla sua dissoluzione (fig. 29). Non

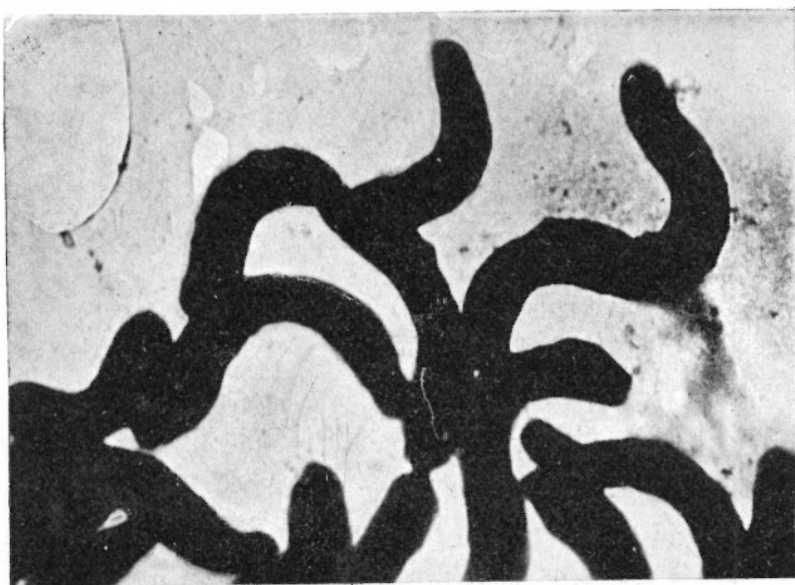


FIG. 26. — Spirillo dell'acqua. normale

si nota la comparsa di forme sferiche. Interessante è l'azione della penicillina sulle spore di *B. subtilis*. Queste hanno normalmente un aspetto molto caratteristico ed uniforme. Esse si presentano come dei corpicciuoli allungati, irregolarmente poligonali, intensamente opachi (fig. 3). In essi è

però possibile distinguere, per lo meno in certi tratti della loro circonferenza, un doppio contorno, indice della presenza di una membrana.

Qualora si prenda una cultura di *B. subtilis*, vecchia di alcuni giorni, e quindi molto ricca di spore, e le si aggiunga una forte dose di penicillina cristallizzata (e quindi priva di sostanze che potrebbero favorire lo sviluppo delle spore), si nota che mentre alcune spore restano immutate, altre si rigonfiano e si diafanizzano notevolmente. Attraverso alla membrana della spora, che mantiene ai poli un'opacità un po' maggiore, che alle volte simula la presenza di un opercolo,

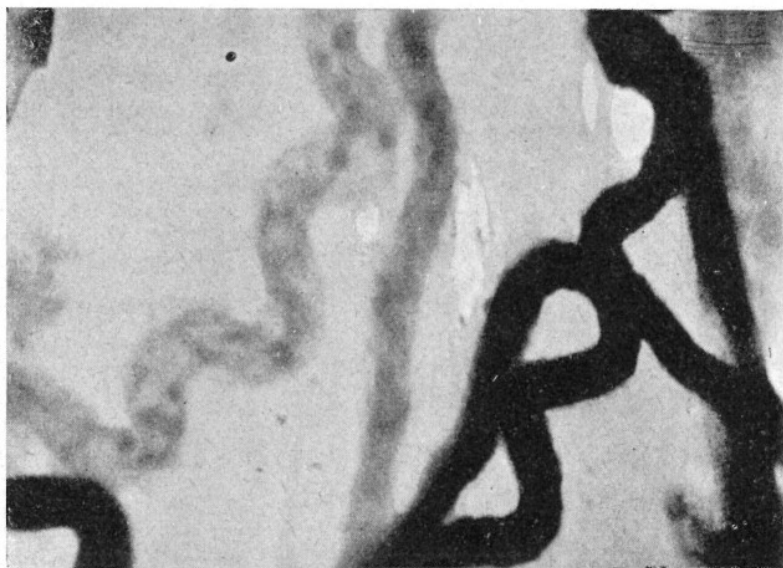


FIG. 27. — Spirillo dell'acqua + 8 U.O. di penicillina

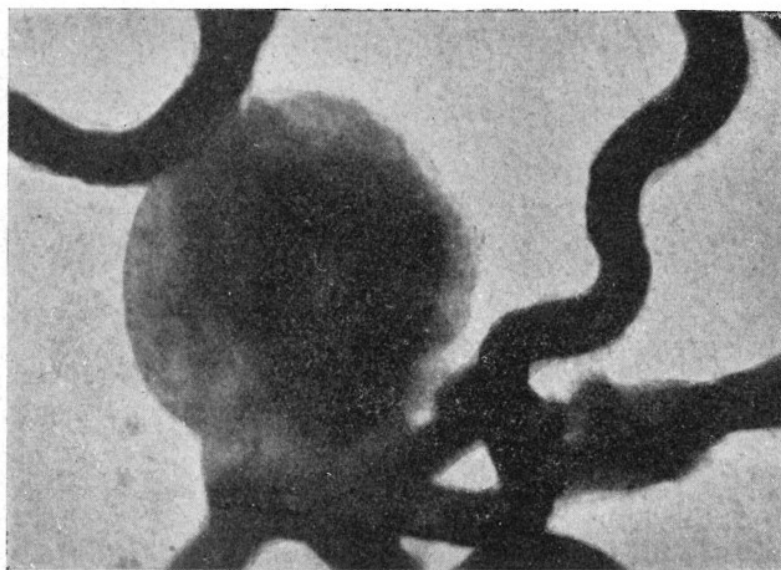


FIG. 28. — Spirillo dell'acqua + 8 U.O. di penicillina

senza di un opercolo, si scorge allora la presenza di una sorta di germe, piuttosto diafano, ma contenente numerosi granuli opachi. Anche la membrana della spora sembra lassa e presenta piccole soluzioni di continuo del suo contorno e piccole aree rotondeggianti, del tutto diafane (fig. 31).

In uno stadio successivo la spora appare ancora maggiormente rigonfiata, più diafana, eccezion fatta per i poli, ridotta alla sola pellicola, mentre il germe in essa contenuto non è più visibile. Le soluzioni di continuo della membrana sono qui ancor meglio visibili (fig. 32). Accanto

a queste forme si osservano pure spore d'aspetto normale, intensamente opache, più spesso esse pure piuttosto ingrossate.

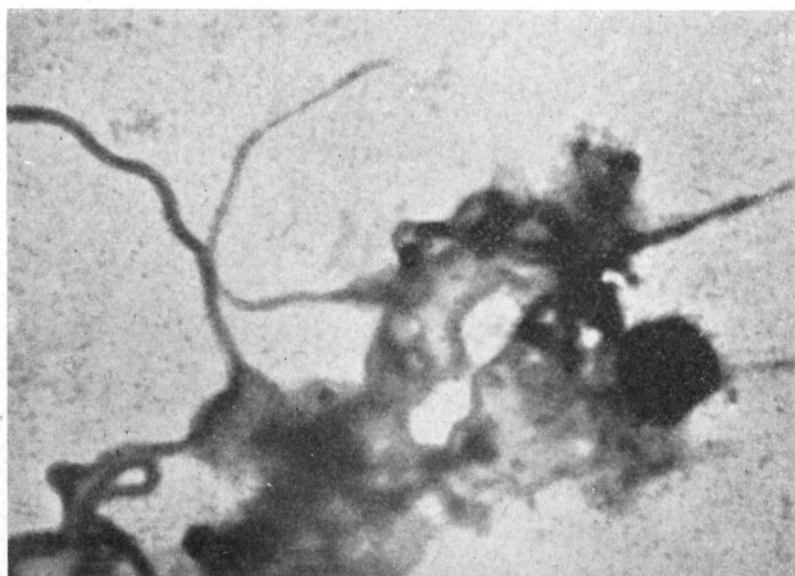


FIG. 29. — Leptospire dell'acqua + 8 U.O. di penicillina

Quest'azione della penicillina sulla spora di *B. subtilis* è interessante perchè rivela che, contrariamente a quella che è l'opinione corrente, lo antibiotico può agire in alcuni casi anche su elementi batterici in fase di vita latente.

Nulla di simile ho osservato a carico delle spore di carbonchio sottoposte all'azione

della penicillina. Queste spore, che sono quasi sempre circondate da residui del corpo batterico, e che sono abbastanza regolarmente ovali, conservano la loro opacità e, tutt'al più, vanno forse incontro ad un lieve rigonfiamento (fig. 33).

Nessuna azione ha la penicillina cristallizzata, anche in dosi altissime, sulla morfologia di germi vivi, ripetutamente lavati e sospesi in soluzione fisiologica.

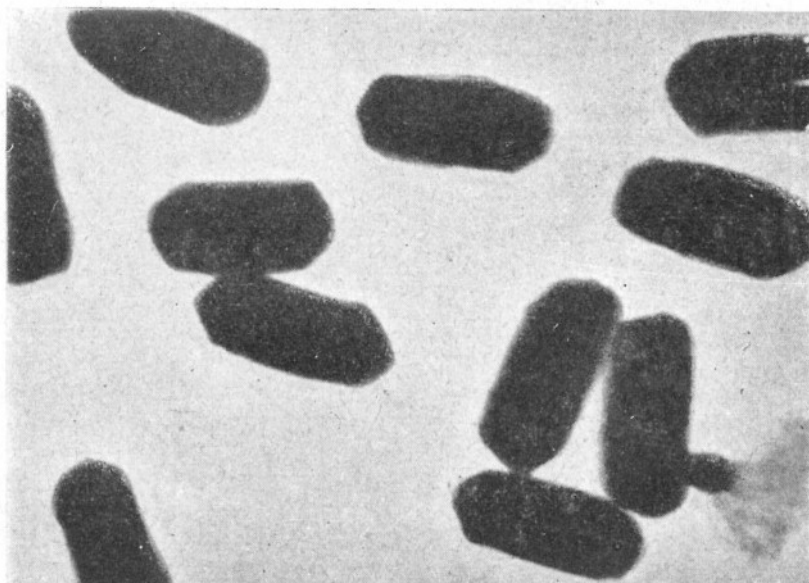


FIG. 30. — Spore di *B. subtilis*, normali

Infine germi resi artificialmente penicillino-resistenti, non mostrano alcuna alterazione morfologica se coltivati in terreno privo di penicillina.

Per quanto riguarda le particolarità dei vari antibiotici studiati, ricorderò che la penicillina dà i più belli aspetti di lisi batterica, anche

in germi, come quelli del tifo, poco sensibili a questo antibiotico; nelle culture trattate con streptomicina o streptotricina predominano le forme con diafanizzazione centrale del protoplasma e persistenza della sua integrità ai poli batterici (fig. 13). Anche la streptomicina permette di osservare aspetti di lisi molto evidenti (figg. 34-36). L'expansina dà con facilità forme enormemente grosse, rigonfie (fig. 34); la subtilina, che ho studiato però

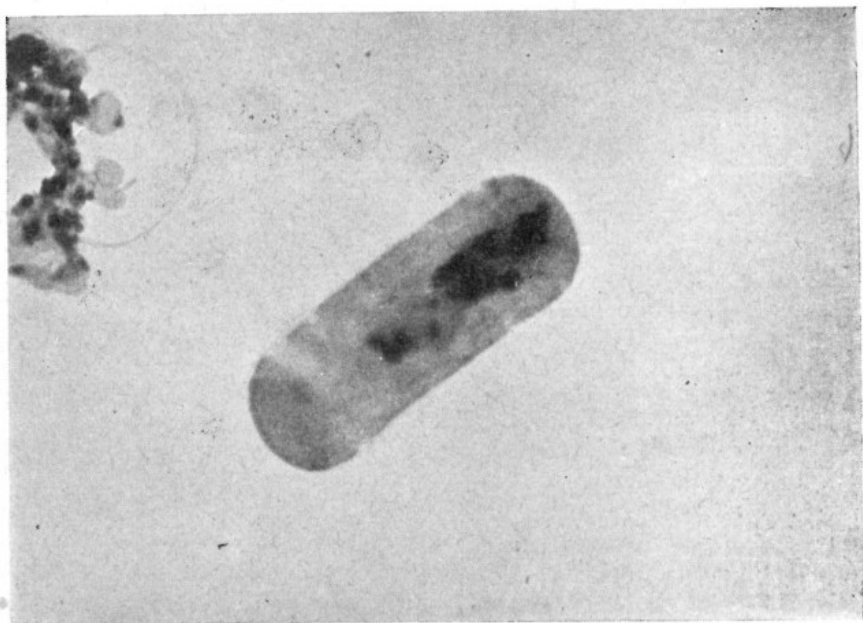


FIG. 31. — Spora di *P. subtilis* + 20 U.O. di penicillina

soltanto in pochi casi, provoca un rigonfiamento dei germi senza diafanizzarli, nè lisarli in modo evidente.

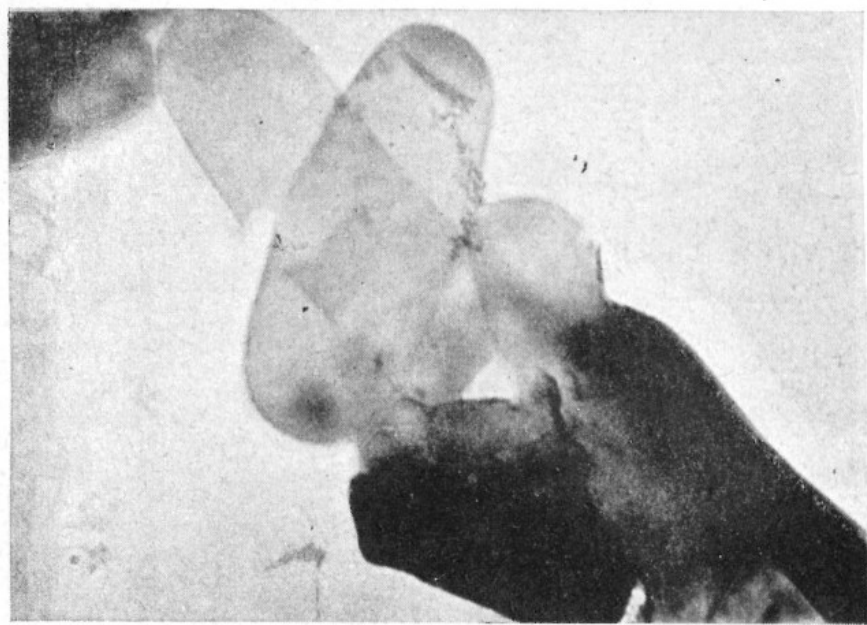


FIG. 32. — Spore di *B. subtilis* + 20 U.O. di penicillina

Non c'è ad ogni modo, all'infuori di piccoli dettagli, una evidente diversità morfologica nei reperti ottenuti con questi vari antibiotici.

Resta da dire qualche cosa sul significato di queste alterazioni. Hanno esse un valore specifico e sono strettamente collegate col meccanismo d'azione

dell'antibiotico, o si tratta di alterazioni aspecifiche, banali, che si manifestano sempre quando un germe cresce in un ambiente poco adatto alla sua vita?

E' difficile dare una risposta sicura a questa domanda. Probabil-

mente una ipotesi non esclude completamente l'altra. Azione fondamentale degli antibiotici, per lo meno in determinati limiti di concen-



FIG. 33. — Spora di *B. anthracis* + 10 U.O. di penicillina

trazione, è quella di determinare una brusca batteriostasi, e questa si può, almeno in parte, considerare specifica. Da questo meccanismo di batteriostasi, per cui il germe continua ad accrescere la sua massa, mentre è incapace di suddividersi, deriva la comparsa delle forme batteriche molto lunghe, di quelle rigonfie, globose.

Però non è caratteristica esclusiva degli antibiotici la proprietà batteriostatica. In genere è sufficiente che le condizioni ambientali siano poco favorevoli alla vita di un germe, perchè la batteriostasi si manifesti, e perchè con essa compaiano forme batteriche mostruose.

Sono note da lungo tempo ormai quelle forme batteriche giganti, mostruose, chiamate Pettenkoferie, che compaiono nelle culture batteriche che si sviluppano in terreni inadatti.

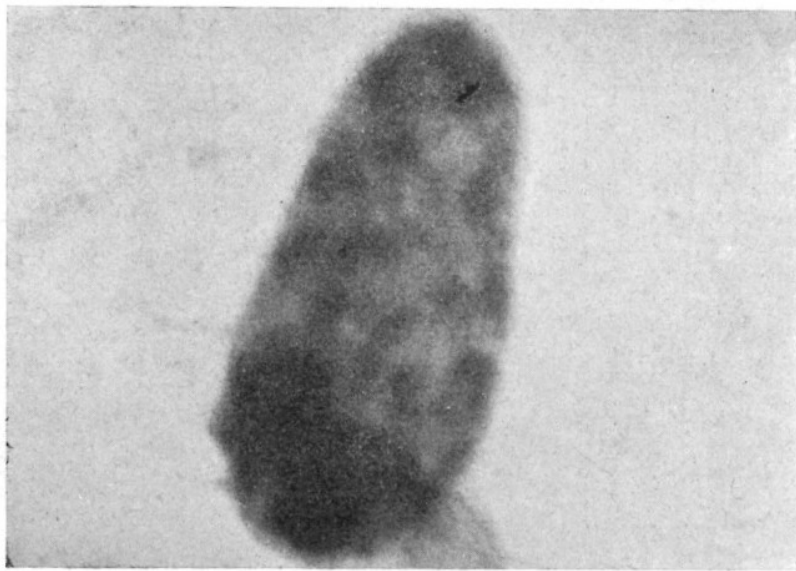


FIG. 34. — *E. typhi* + expansina

Mellon⁽⁹⁾ ha descritto forme simili, derivate da *B. coli*, nell'urina di pazienti trattati con urotropina e fosfato acido di sodio. Io stesso ho stu-

⁽⁹⁾ MELLON.

diato ⁽¹⁰⁾, anche con l'ausilio del microscopio elettronico, forme mostruose di questo genere e lunghe forme filamentose in *Rickettsia prowazeki* coltivata nell'embrione di pollo e mal sviluppatesi.

Forme giganti e fenomeni di lisi batterica abbastanza simili a quelli dati dagli antibiotici, sono stati osservati da me e Bietti ⁽⁸⁾ a carico di cocci trattati col lysozym.

In conclusione se a proposito di alcuni particolari delle alterazioni

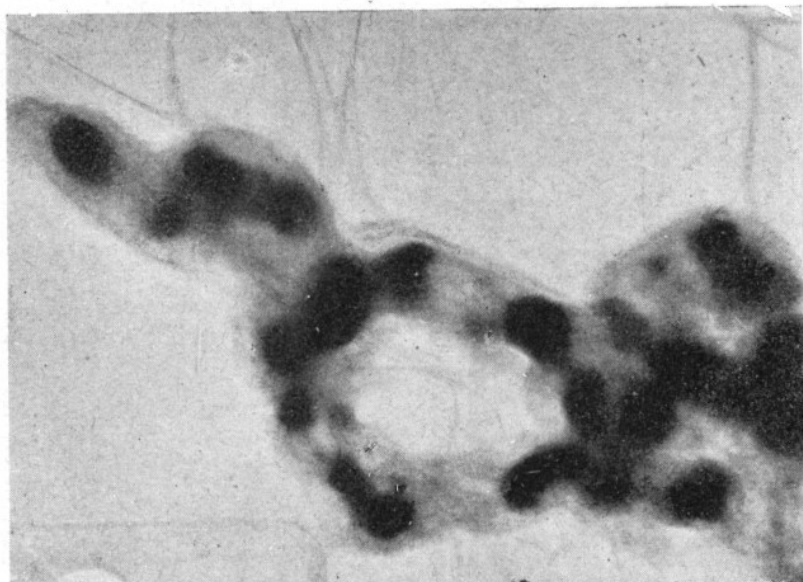


FIG. 35. — *E. typhi*: vecchia cultura

morfologiche indotte dagli antibiotici si può anche parlare di una certa

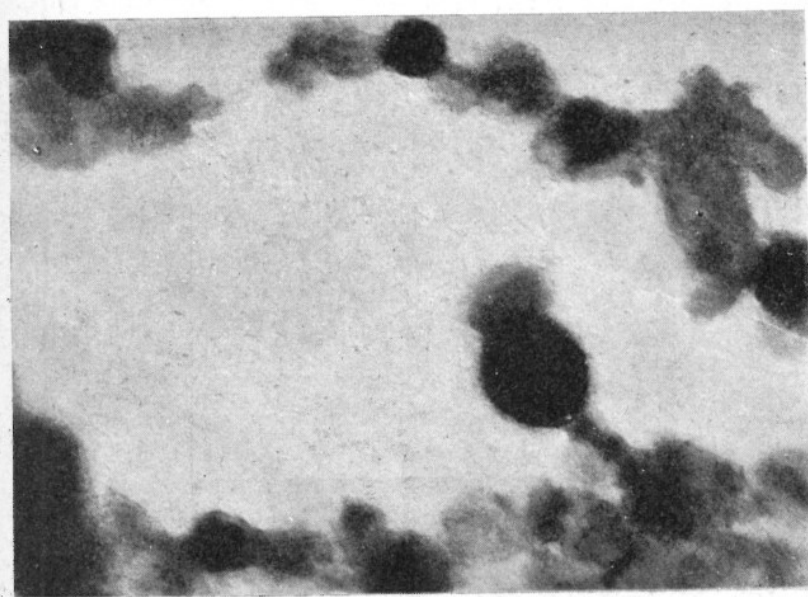


FIG. 36. — *Staph. aureus*: vecchia cultura

specificità, in quanto forse i vari antibiotici interferiscono in maniera particolare sulle proprietà assimilative dei germi, in linea di massima bisogna riconoscere che queste alterazioni non si possono ritenere specifiche, ma sono quelle che sempre intervengono quando un fattore specifico o meno, rende l'ambiente po-

co adatto allo sviluppo e alla riproduzione di un germe. Ciò naturalmente a parte dell'azione batteriolitica degli antibiotici, azione quest'ultima che si può considerare specifica, per lo meno entro certi limiti.

⁽¹⁰⁾ B. BABUDIERI, Lo sviluppo di *Rickettsia prowazeki* nell'embrione di pollo, Rend. Ist. Sup. di Sanità, 6, 292 (1943).

Resta ancora da esaminare l'ipotesi che di recente Penso e Scanga ⁽¹¹⁾ hanno prospettato e che vorrebbe spiegare il meccanismo d'azione

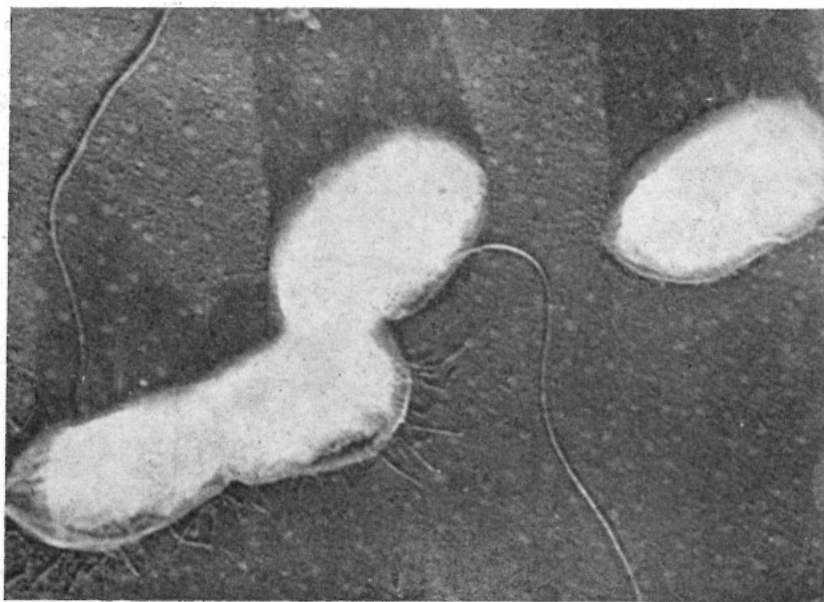


FIG. 37. — *E. typhi* + streptomina. Fasi successive di lisi

della streptomina sui germi. Secondo questi A.A. l'antibiotico porterebbe il germe ad una senilità precoce. Essi sono giunti a questa ipotesi confrontando germi trattati ad intervalli successivi da culture normali, con germi trattati da culture con aggiunta di streptomina, e constatando che l'aspetto morfologico di germi

trattati da breve tempo con la streptomina corrisponde a quello di germi molto più vecchi trattati da culture normali.

Non posso accettare tale ipotesi. Come ho detto più sopra, è inesatto identificare l'età di un germe con quella di una cultura, mentre, almeno entro certi limiti e con una certa approssimazione, lo si può fare con germi trattati con un batteriostatico. Infatti un germe trattato mezz'ora prima con un antibiotico, e reso quindi incapace di suddividersi, sarà probabilmente molto

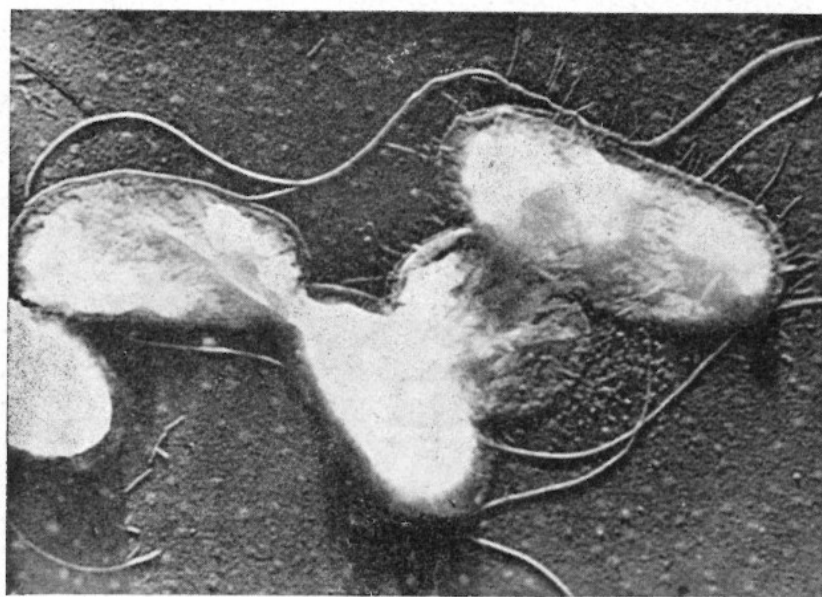


FIG. 38. = *E. typhi* + streptomina. Fasi successive di lisi

⁽¹¹⁾ PENSO G., SCANGA F., Sul meccanismo d'azione della streptomina. Nota I. Azione della streptomina sul *B. coli* in anabiosi, osservata al microscopio elettronico. Comunic. al IV Congresso internaz. di Microbiologia. Copenhagen, luglio 1947.

più vecchio di un germe tratto da una cultura normale di 8 ore, perchè quest'ultimo può anche essere il frutto di una divisione avvenuta pochi secondi prima. Ma a parte questa considerazione fondamentale che toglie ogni valore al confronto fra germi tratti dalle due culture e che rende quindi priva di senso l'ipotesi di un invecchiamento precoce dei germi (si potrebbe tutt'al più, e anche così non del tutto esattamente, parlare di un invecchiamento precoce della cultura), non è neppure vero che le alterazioni provocate dagli antibiotici corrispondano, se non per alcune superficiali analogie, con

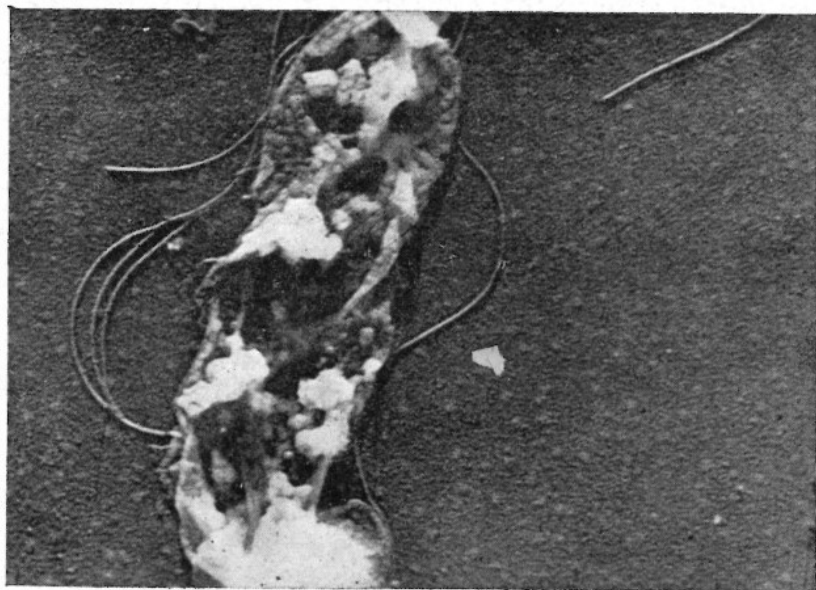


FIG. 39. — *E. typhi* + streptomicina. Fasi successive di lisi

quelle che si rilevano in germi di vecchie culture. Mancano infatti in queste, o sono molto rare, le lunghe forme filamentose e quelle rigonfie, globose, costantemente date dagli antibiotici, e se è vero che in ambedue i casi si assiste ad uno spezzettamento del protoplasma e ad una sua diafanizzazione, si ha molto di rado sotto l'azione degli antibiotici la comparsa di quelle inclusioni opache, globose, a margini ben regolari, che caratterizzano la terza fase di Ruska e Piekarski e che sono indice della incipiente senilità del germe. Se poi si osservano culture piuttosto vecchie, si assiste ad alterazioni della forma e della membrana batterica e alla comparsa di ammassi amorfi derivanti da germi disfatti, quali non si osservano mai nelle culture sottoposte all'azione degli antibiotici, se non quando all'azione di questi si associa l'effetto della senescenza naturale della cultura (figg. 38, 39).

Le analogie che indubbiamente ci sono tra germi di vecchie culture (e per vecchie culture intendo culture di qualche giorno in cui i germi hanno pressochè completamente perduto tanto la capacità assimilativa che quella riproduttiva) e germi trattati con antibiotici (diafanizzazione della parte centrale del corpo batterico, visualizzazione della membrana,

tendenza al polimorfismo, comparsa di qualche forma filamentosa) si possono ben comprendere quando si pensi che anche nella cultura che invecchia l'ambiente diviene gradatamente inadatto alla moltiplicazione dei germi.

L'essenziale differenza fra i due casi consiste in questo: che mentre nel caso dell'aggiunta dell'antibiotico il germe è bruscamente bloccato nella sua capacità riproduttiva mentre conserva quella assimilativa, da cui la frequente comparsa di forma giganti; nel caso della senescenza normale il germe, esaurendosi gradatamente nel terreno le sostanze nutritive di cui ha bisogno, perde quasi contemporaneamente la sua capacità riproduttiva e quella assimilativa. Ciò basta, a mio parere, a spiegare le diversità e le analogie dei due processi degenerativi. A ciò è ancora da aggiungersi la circostanza che l'antibiotico, se in dosi sufficientemente elevate, esercita anche un'azione battericida e batteriolitica, che si manifesta con le alterazioni protoplasmatiche che colpiscono i germi ingrossati e rigonfiati e, alle volte, anche germi di dimensioni normali.

Per tutte queste considerazioni ritengo che i fenomeni dovuti alla presenza di antibiotici non si debbano interpretare come un'accelerazione di un fenomeno fisiologico, come quello della senescenza normale dei germi, bensì debbano essere considerati come fenomeni nettamente patologici.

Roma. — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di batteriologia. 12 ott. 1947.
