

61. Franco SCANGA. — L'azione della streptomicina, del solfone e di alcuni disinfettanti sui germi, studiate al microscopio elettronico.

Riassunto. — L'A., servendosi dell'osservazione al microscopio elettronico ha studiato l'azione della streptomicina, del solfone e di vari disinfettanti (alcool, ac. fenico e formalina) su alcuni microrganismi (*B. coli* e *M. friburgensis*) mantenuti in anabiosi o in fase di moltiplicazione. Una serie di 36 fotografie illustra e documenta le varie alterazioni riscontrate.

Résumé. — L'A., utilisant la méthode d'observation sous le microscope électronique, a étudié l'action de la streptomycine, du sulfone et de divers désinfectants (alcool, ac. phénique et formoline) sur quelques micro-organismes (*B. coli* et *M. friburgensis*) maintenus en phase abiotique ou en phase de multiplication. Une série de 36 photographies illustre et documente les diverses altérations observées.

Summary. — The A., using the method of investigation with the electron microscope, has studied the action of streptomycin, sulphone and various disinfectants (alcohol, phenol and formaline) on some microorganisms (*B. coli* and *M. friburgensis*) maintained in abiotic or in biotic phase. A series of 36 photographs illustrates and documents the various changes observed.

Zusammenfassung. — Der Verfasser hat durch eine, mit dem Elektronenmikroskop durchgeführte Untersuchung, die Einwirkung des Streptomycins, des Sulfons und verschiedener Desinfektionsmittel (Alkohol, Phenol und Formalin) auf einige in abiotischer Phase bzw. in Vermehrungsphase gehaltene Mikroorganismen (*B. coli* und *M. friburgensis*) studiert. Eine Reihe von 36 Photographien veranschaulicht und bekrundet die verschiedenen von ihm festgestellten Veränderungen.

Noi abbiamo già precedentemente studiato, servendoci dell'osservazione al microscopio elettronico, l'azione della streptomicina in dosi subinibenti sui germi, sia in fase biotica, cioè in via di sviluppo, mante-

nuti in terreno culturale a 37° C (¹⁻²), sia sui germi in fase abiotica cioè conservati o in soluzione fisiologica ed a 37° C, o in brodo, ma *in frigore* (³).

Nel primo caso abbiamo seguito l'andamento della moltiplicazione batterica mediante sistematico controllo nefelometrico al Pulfrich e mediante conteggio degli organismi viventi, con la tecnica delle subculture su piastra; quindi abbiamo studiato al microscopio elettronico le modificazioni riscontrate ad intervalli regolari di tempo sui germi normali e su quelli cresciuti a contatto con dosi subinibenti di streptomycin.

In base alle osservazioni fatte, abbiamo concluso che i germi in brodocultura senza antibiotico, evolvono la loro facies strutturale nel senso che mentre le forme giovani si presentano con protoplasma piuttosto compatto, non trasparente, con membrana pericellulare invisibile, man mano che le culture invecchiano, si nota la prevalenza di forme allungate, con coartazione e chiarificazione del protoplasma, mentre la membrana pericellulare appare completamente distaccata dal protoplasma batterico.

Nelle brodoculture contenenti dosi subinibenti di streptomycin, sin dalla 24^a ora i germi presentano rigonfiamento, distacco della membrana cellulare, schiarimento protoplasmatico, prevalentemente centrale all'inizio, accompagnato da un rigonfiamento della zona chiara e da un addensamento apicale, che va sempre più riducendosi. Il germe arriva infine a presentare un corpo molto allungato, di dimensioni diverse volte superiori a quelle normali, con protoplasma ridotto a piccoli addensamenti a limiti sfumati, mentre la membrana pericellulare appare come un sacco svuotato del suo contenuto.

Nel secondo gruppo di ricerche, eseguite su germi sospesi in soluzione fisiologica o in brodo, tenuto *in frigore*, l'aspetto morfologico sia dei germi normali che di quelli trattati con piccole quantità di streptomycin, è risultato essenzialmente identico.

(¹) G. PENSO e F. SCANGA, Alterazioni della *Escherichia coli*, in fase biotica e trattata con la streptomycin, osservate al microscopio elettronico, Rend. Ist. Sup. di Sanità, 10, 633 (1947).

(²) F. SCANGA, L'azione della streptomycin sui germi, studiata al microscopio elettronico con la tecnica delle ombre, Rend. Ist. Sup. di Sanità, (1948), in corso di stampa.

(³) G. PENSO e F. SCANGA, Azione della streptomycin sulla *Escherichia coli* mantenuta in anabiosi e quindi osservata al microscopio elettronico, Rend. Ist. Sup. di Sanità, 10, 639 (1947).

Con le attuali ricerche, noi ci proponiamo di raggiungere i seguenti scopi:

1) studiare l'azione della streptomicina sui germi in fase abiotica, per constatare se, aumentando la concentrazione dell'antibiotico (25-50 U/cm³), questo riesce ad esplicare una qualche azione anche sui microrganismi mantenuti in anabiosi, rilevabile con l'osservazione al microscopio elettronico;

2) studiare l'azione del solfone: a) sul B. coli in fase biotica, b) sul B. coli in fase abiotica, c) sul B. coli in fase biotica in associazione con la streptomicina;

3) osservare le eventuali modifiche riscontrate sul *Mycobacterium friburgensis* coltivato in profondità, su terreno liquido con Twin 80, a contatto con dosi subinibenti di streptomicina o di solfone;

4) constatare quali alterazioni determina sul B. coli in fase biotica l'associazione della streptomicina e del solfone, in dosi corrispondenti alla metà di quelle subinibenti;

5) studiare l'azione di alcuni disinfettanti, in dosi subinibenti, sul B. coli in fase biotica, onde poter fare un raffronto fra le varie alterazioni osservate.

Tali ricerche sono state precedute da uno studio nefelometrico di ogni brodocultura, sia normale che trattata con solfone, alcool, ac. fenico e formalina. La tabella I mostra i valori nefelometrici medi ottenuti per ciascuna sostanza, mediante l'osservazione al Pulfrich, ad intervalli vari di tempo; per quanto riguarda la streptomicina, valgano i risultati riportati in un nostro precedente lavoro (2).

TABELLA I.

VALORI NEFELOMETRICI (PULFRICH) DI UNA BRODOCULTURA DI B. COLI, TENUTA IN TERMOSTATO A CONTATTO CON DOSI SUBINIBENTI DI SOLFONE, ALCOL, ACIDO FENICO E FORMALINA.

	subito	2 h	4 h	6 h	8 h	24 h	30 h	34 h	48 h	72 h	96 h
Formalina 1: 40.000.	59,2	72,7	118,5	952,5	1.696	2.065,5	2.154,2	2.321,5	2.065,5	2.100,5	2.402,7
Alcool 1: 30.	85	86,5	139,2	970	1.231	1.450	1.642,7	1.776	1.776	2.193	2.479,2
Acido fenico 1: 700.	77,2	84,5	133	1.028	1.310	1.640	1.686,5	2.108,2	1.868,7	1.949,5	2.111
Solfone 1:300	61,2	82,7	525	1.727	1.696	2.441,5	2.438	2.604,7	2.320	2.974,7	3.346,5
Controllo.	74	221	909	2.000	2.222	2.857	2.941	3.241	3.241	3.139	3.272

Da queste prove risulta la differenza esistente tra comportamento della curva nefelometrica dei disinfettanti e quella del solfone.

Nel primo caso, la curva opacimetrica è in continuo aumento sino alla 96^a ora, ma tale aumento si mantiene sempre al di sotto del controllo.

Nella brodocultura contenente solfone la curva nefelometrica raggiunge valori superiori a quelli della brodocultura controllo, probabilmente in rapporto al disfacimento massivo che i corpi bacillari subiscono per azione del solfamidico. Infatti è risultato che la quantità degli organismi viventi, presenti nella brodocultura con solfone, non cresce proporzionalmente all'aumento opacimetrico, come nella brodocultura normale.

Passiamo ora ad esaminare i risultati delle nostre osservazioni al microscopio elettronico.

I. — AZIONE DELLA STREPTOMICINA SUL B. COLI, MANTENUTO IN ANABIOSI

Nelle nostre precedenti ricerche riguardanti l'azione della streptomicina sul B. coli in fase abiotica, cioè tenuto in soluzione fisiologica oppure in brodo ed *in frigore*, avevamo già constatato che non era possibile evidenziare al microscopio elettronico differenze apprezzabili tra germi normali e germi trattati con streptomicina, in piccole dosi (0,5-5 U/cm³).

In queste nostre ricerche noi abbiamo ripetuto le stesse prove impiegando però dosi molto più elevate di streptomicina (25-50 U/cm³), per vedere se concentrazioni maggiori dell'antibiotico potessero esplicare qualche azione anche sui germi non in moltiplicazione. Pure in questo caso però la differenza fra germi normali e germi trattati non è risultata rimarchevole.

Ecco la descrizione di alcuni fra i numerosi preparati osservati. Fig. 1-2: B. coli proveniente da brodocultura di 24 h. raccolto, mediante centrifugazione, in soluzione fisiologica ed osservato al microscopio elettronico dopo 48 h. di permanenza in tale sospensione. Il protoplasma occupa la parte centrale del corpo batterico mentre tutt'intorno la membrana appare distaccata nettamente. Da rilevare la compattezza del protoplasma.

Fig. 3-4-5-6: B. coli proveniente da brodocultura di 24 h. raccolto mediante centrifugazione, in soluzione fisiologica e tenuto a contatto per 48 h. con 50 U. di streptomicina per cm³. Eccetto che nella fig. 6 la

quale mostra 2 elementi piuttosto rotondeggianti, prevalgono in genere le forme batteriche allungate che spesso occupano l'intero campo d'osservazione (fig. 5). Il protoplasma, compatto, è concentrato quasi sempre nella parte centrale del corpo batterico ed i suoi limiti non sono netti e regolari come nei germi controllo, ma presentano delle anfrattuosità e dei rientramenti piuttosto irregolari.

2. — AZIONE DEL SOLFONE SUL B. COLI

Del tutto differenti sono le modificazioni determinate sui germi dal solfone. Nelle nostre ricerche abbiamo adoperato il sale sodico del p-p-diamino-difenil-solfone, che trovasi in commercio sotto il nome di Solfone De Angeli, ricercando le alterazioni prodotte da tale sostanza sui germi in fase biotica e abiotica, in dosi subinibenti, cioè adoperando una concentrazione del solfone tale da permettere ancora la crescita del germe. Come microrganismo ci siamo serviti in queste ricerche del solito ceppo di B. coli.

A) *Azione sul B. coli in fase biotica.* (Fig. 7-8-9-10-11-12-13 e 14). — La concentrazione del solfone nel liquido di cultura corrisponde alla diluizione 1/300. Dopo l'aggiunta del solfone, le brodoculture tenute in termostato a 37° C, sono state osservate ad intervalli regolari di tempo (24-48-72 h). I microrganismi cresciuti nelle brodoculture controllo sono risultati uguali a quelli già osservati nella nostra prima nota (¹) e ad essa pertanto rimandiamo per far rimarcare le differenze riscontrate.

Le fig. 7 e 8 (brodocultura di 24 h.) mostrano elementi allungati, con disposizione quasi a catena, le cui maglie, costituite dai corpi batterici appaiono come collegate da un tessuto di congiunzione. Il protoplasma appare generalmente compatto, ma presenta delle interruzioni sui contorni laterali, attraverso le quali sembra quasi fuoriesca una parte della massa protoplasmatica. La membrana cellulare non è visibile.

Le fig. 9-10 e 11 mostrano germi provenienti da una brodocultura di 48 h., trattata con solfone; tali germi conservano la disposizione a catena, osservata precedentemente; la congiunzione fra i singoli elementi appare spesso come assottigliata (fig. 10-11); il protoplasma presenta zone compatte ben conservate e zone in cui il disfacimento, già precedentemente notato, si presenta in una fase più avanzata, interessando una parte mag-

giore del corpo batterico. Anche in questi elementi non è visibile la membrana cellulare.

Le fig. 12, 13 e 14 (da brodocultura di 72 h.) mostrano elementi in cui è difficile riconoscere l'originaria forma batterica. Il disfacimento del protoplasma è completo.

B) *Azione sul B. coli in fase abiotica* (fig. 15 e 16). — Come al solito trattasi di germi provenienti da una brodocultura di 24 h., centrifugati, raccolti in soluzione fisiologica e tenuti a contatto per 48 h. con dosi subinibenti di solfone.

Mentre i germi controllo presentano l'aspetto descritto precedentemente (fig. 1-2) i corrispondenti microrganismi trattati con solfone, non presentano, come quelli controllo, una costante coartazione del protoplasma batterico con il conseguente distacco della membrana cellulare, ma appaiono ingrossati e rigonfi, con protoplasma che occupa quasi l'intero corpo batterico, eccettuata una piccola zona di schiarimento ad uno dei due estremi, dove si evidenzia la membrana cellulare. Accanto a queste forme, il cui significato interpretativo per il momento ci sfugge, si rilevano con minor frequenza alcuni elementi in cui è visibile una parziale coartazione del protoplasma con un accenno di disfacimento iniziale.

3. — AZIONE DELLA STREPTOMICINA E DEI SOLFONI SUL MYCOBACTERIUM FRIBURGENSIS

L'osservazione al microscopio elettronico dei micobatteri comporta delle difficoltà tecniche dipendenti dal fatto che questi bacilli si presentano ammassati e difficilmente disaggregabili. Le figure 17-18 mostrano il *Mycobacterium friburgensis* proveniente da una cultura in superficie su terreno liquido (Sauton); la patina batterica è stata raccolta, pestata ripetutamente in mortaio per renderla il più possibile omogenea, sospesa in acqua distillata, lavata ripetute volte e quindi osservata al microscopio elettronico. I bacilli si presentano ammassati fra di loro, come rinchiusi in una massa di sostanza che ne delimita i contorni: trattasi della capsula cerea. L'interpretazione è molto dubbia.

Pertanto avendo potuto disporre di una piccola quantità di Twin 80, abbiamo allestito una cultura del *Mycobacterium friburgensis* in terreno liquido, con crescita omogenea in profondità, onde ovviare ai precisati in-

convenienti, ottenendo una crescita del micobatterio in 72 h., quasi come un germe comune. A tali brodoculture abbiamo aggiunto dosi subinibenti di streptomycinina o di solfone; per motivi tecnici tali ricerche però sono risultate incomplete e frammentarie. Ecco comunque riprodotte alcune fotografie che abbiamo potuto eseguire: le fig. 19 e 20 mostrano dei micobatteri normali in Twin 80 dopo 72 h. di permanenza in termostato: notansi elementi allungati piuttosto sottili, che non appaiono circondati da quei particolari aloni, come i bacilli delle figure precedenti. I corpi batterici sono variamente ricoperti da zone di sostanza compatta più o meno estese ma quasi sempre con tendenza alla forma rotondeggiante: sono questi i cosiddetti granuli di Hunne.

Le fig. 21-22 e 23 mostrano dei micobatteri trattati con dosi subinibenti di streptomycinina dopo 72 h. di permanenza in termostato. L'unica differenza che a noi sembra rilevare in confronto alle due figure precedenti è un maggiore spessore del corpo batterico, un più accentuato schiarimento del protoplasma e la diminuzione come numero e come estensione di quelle aree di sostanza compatta di forma rotondeggiante precedentemente interpretate come granuli di Hunne. Le fig. 24 e 25 mostrano l'azione esplicata dal solfone in dosi subinibenti. Mentre la fig. 24 non pare evidenziare alterazioni apprezzabili, la fig. 25 mostra la presenza di forme bacillari non più allungate a bastoncino, ma rotondeggianti, quasi a forma di palla; tali trasformazioni sono state da noi osservate anche in altre successive ricerche.

4. — ASSOCIAZIONE DEL SOLFONE E DELLA STREPTOMICINA IN DOSI SUBINIBENTI SUL *B. COLI*

In queste ricerche, abbiamo voluto studiare quali fossero le modificazioni osservate sul *B. coli* tenuto a contatto con la metà della dose subinibente sia della streptomycinina che del solfone. Una risposta al quesito se esista fra le due sostanze un'azione sinergica o assommativa, esula da queste osservazioni. Noi ci limitiamo a rilevare semplicemente le alterazioni che abbiamo potuto mettere in evidenza servendoci del microscopio elettronico. Le fig. 26 e 27 mostrano microrganismi provenienti da una brodocultura di 24 h., tenuta a contatto con streptomycinina e solfone.

Interessante è il confronto tra l'attuale fig. 26 e la fig. 24 del nostro precedente lavoro ⁽¹⁾ e tra le attuali fig. 27 e 8: noi cioè constatiamo

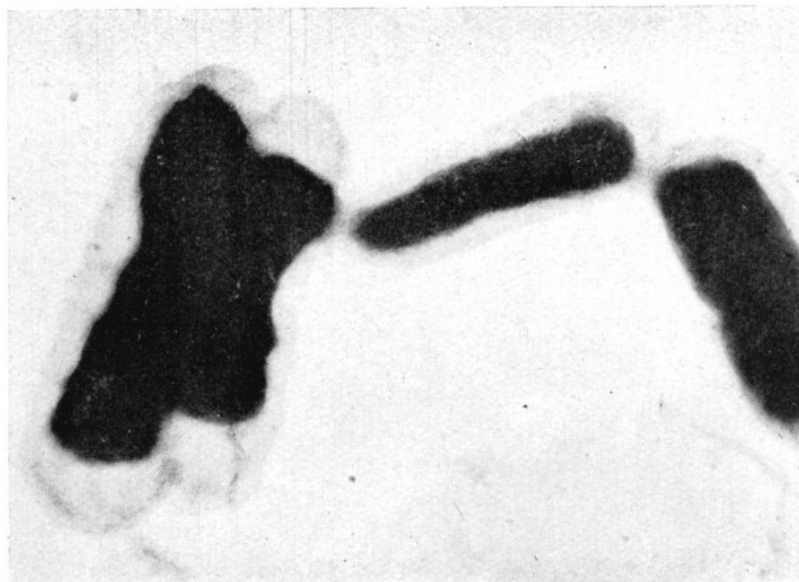


FIG. 1. - *B. coli* proveniente da brodo-cultura di 24 h., raccolto mediante centrifugazione in soluzione fisiologica ed osservato dopo 48 h.

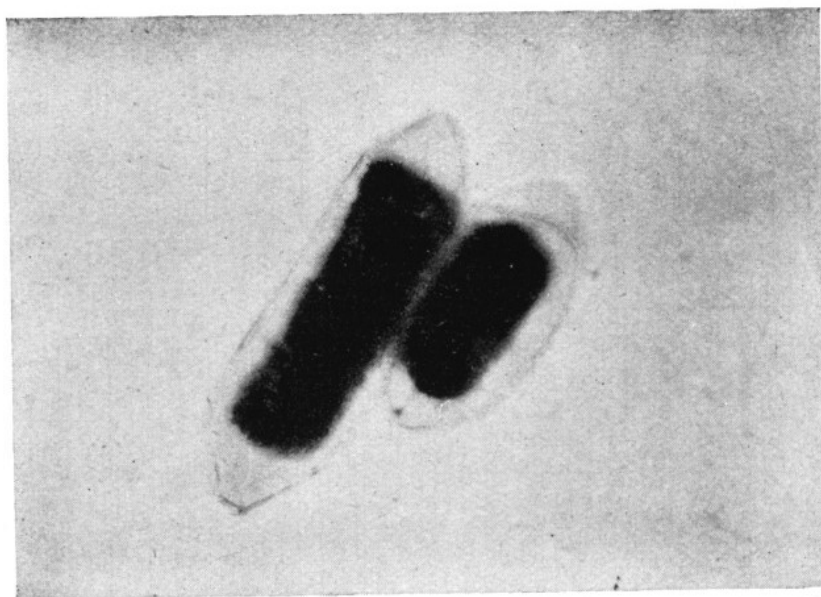


FIG. 2. - *B. coli* proveniente da brodo-cultura di 24 h., raccolto mediante centrifugazione in soluzione fisiologica ed osservato dopo 48 h.

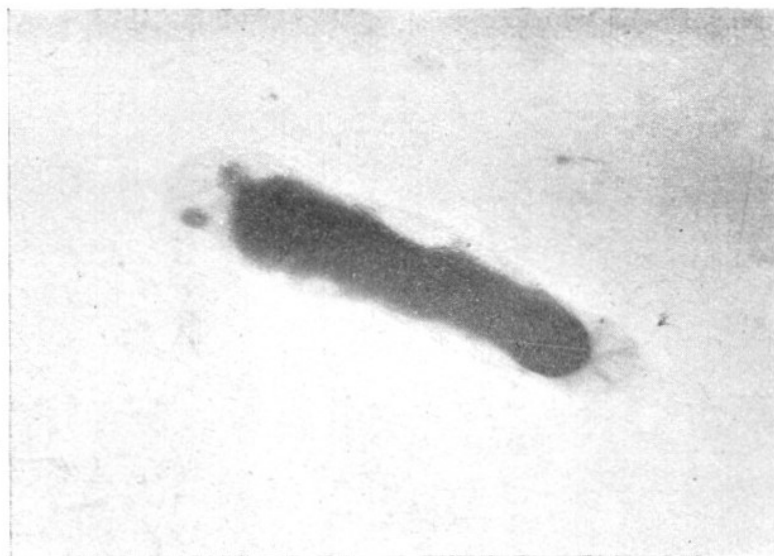


FIG. 3. - *B. coli* proveniente da brodo-cultura di 24 h. raccolto mediante centrifugazione in soluzione fisiologica e tenuto a contatto 48 h. con 50 U. di streptomicina per cm^3

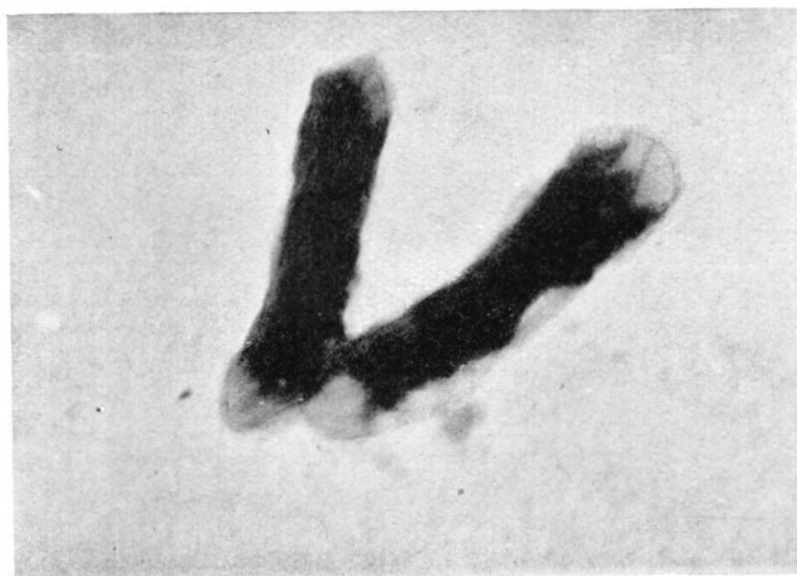


FIG. 4. - *B. coli* proveniente da brodo-cultura di 24 h. raccolto mediante centrifugazione in soluzione fisiologica e tenuto a contatto 48 h. con 50 U. di streptomicina per cm^3

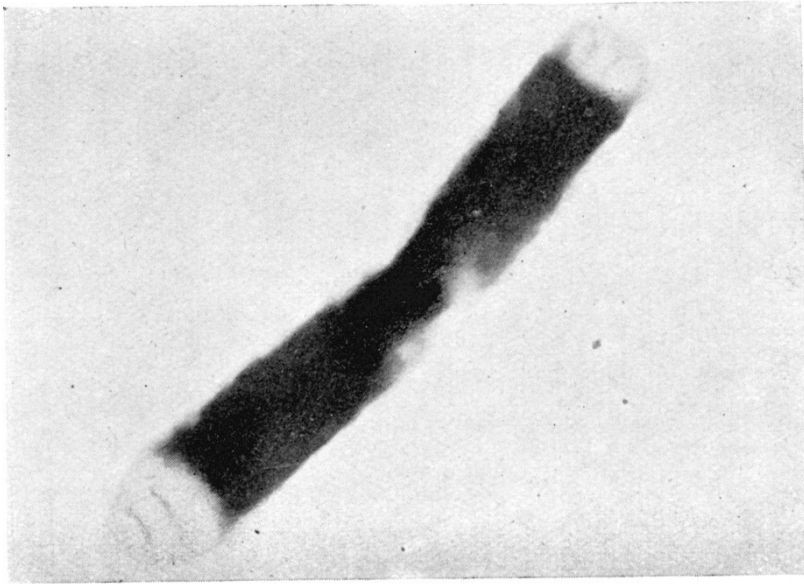


FIG. 5. - *B. coli* proveniente da brodo-cultura di 24 h. raccolto mediante centrifugazione in soluzione fisiologica e tenuto a contatto 48 h. con 50 U. di streptomicina per cm^3

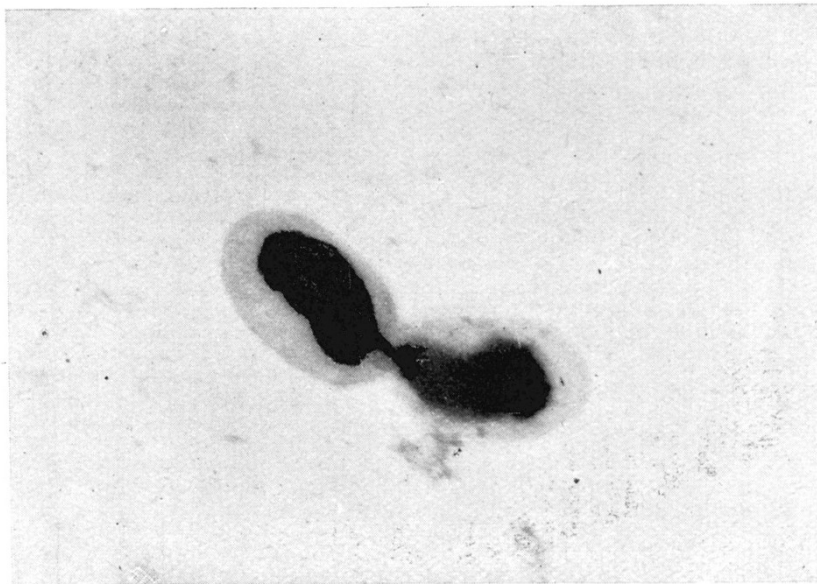


FIG. 6. - *B. coli* proveniente da brodo-cultura di 24 h. raccolto mediante centrifugazione in soluzione fisiologica e tenuto a contatto 48 h. con 50 U. di streptomicina per cm^3

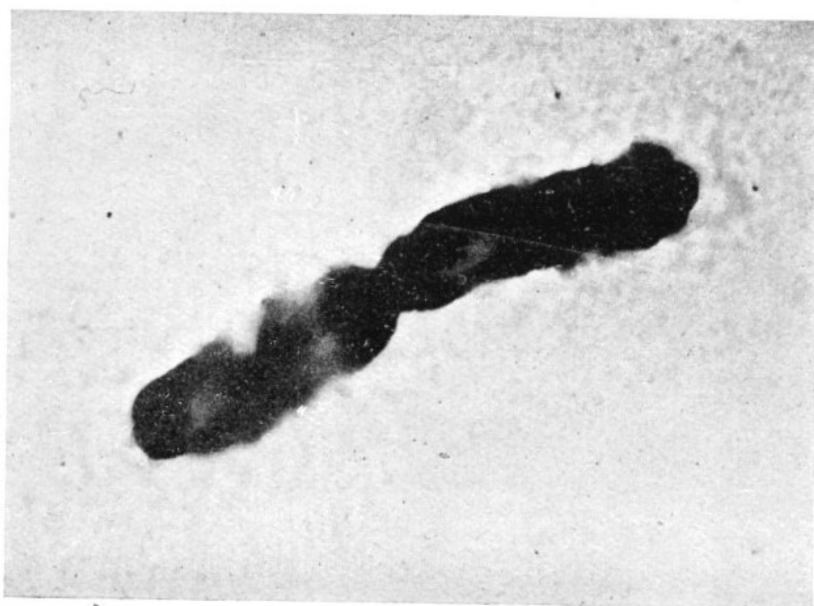


FIG. 7. - *B. coli* da brodo-cultura di 24 h., trattato con solfone

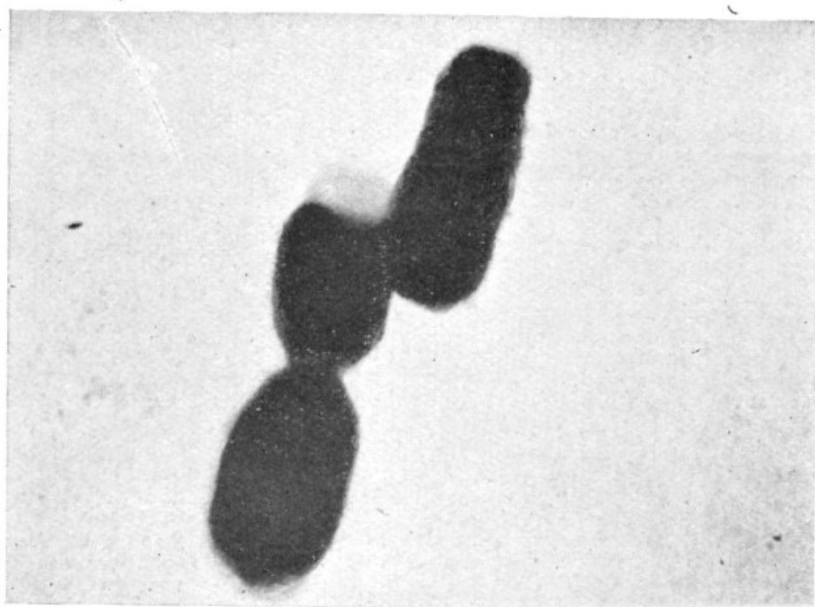


FIG. 8. - *B. coli* da brodo-cultura di 24 h., trattato con solfone

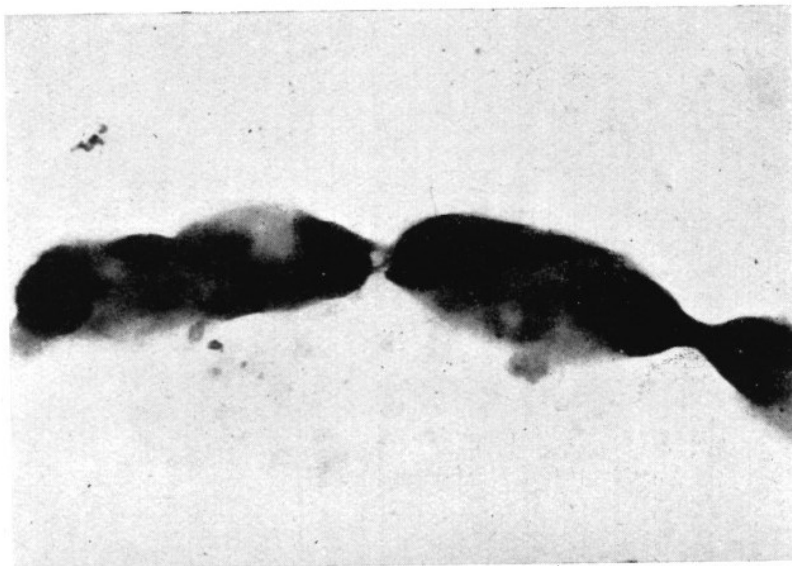


FIG. 9. - B. coli da brodo-cultura di 48 h. trattato con solfone

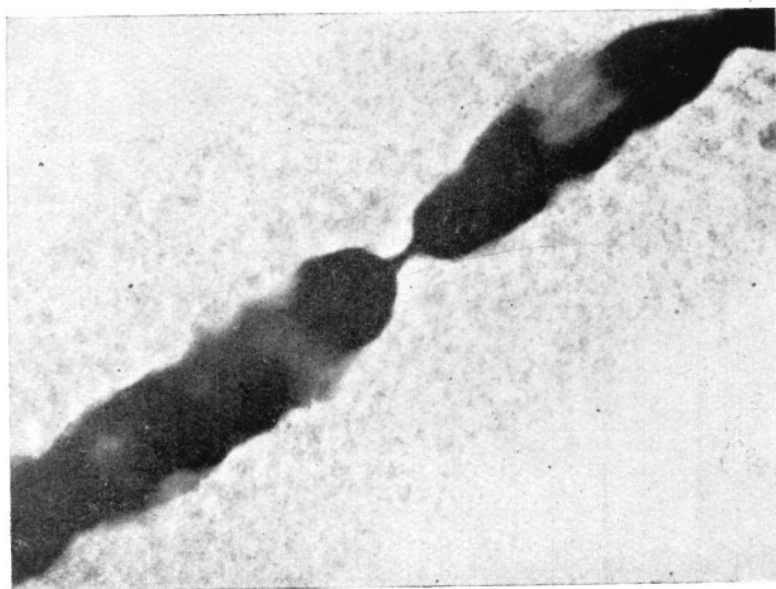


FIG. 10. - B. coli da brodo-cultura di 48 h. trattato con solfone

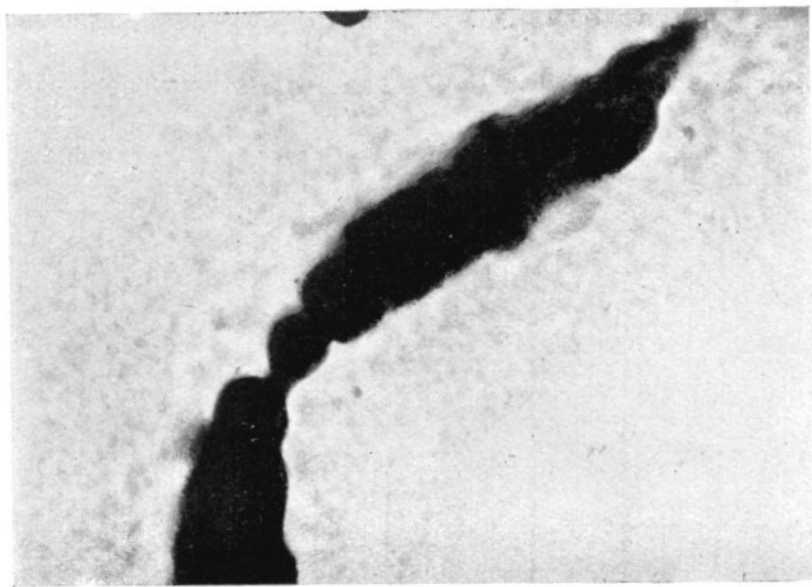


FIG. 11. - *B. coli* da brodo-cultura di 48 h. trattato con solfone



FIG. 12. - *B. coli* da brodo-cultura di 72 h. trattato con solfone

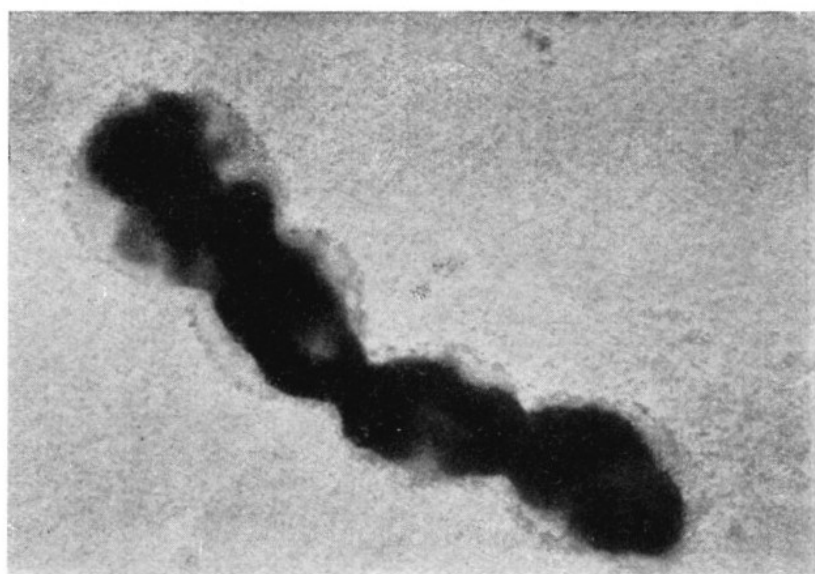


FIG. 13. - *B. coli* da brodo-cultura di 72 h. trattato con solfone

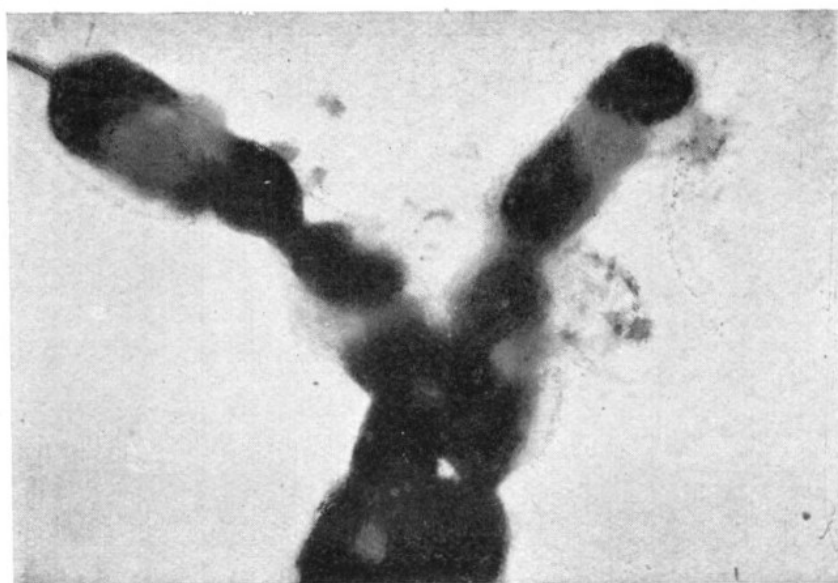


FIG. 14. - *B. coli* da brodo-cultura di 72 h. trattato con solfone

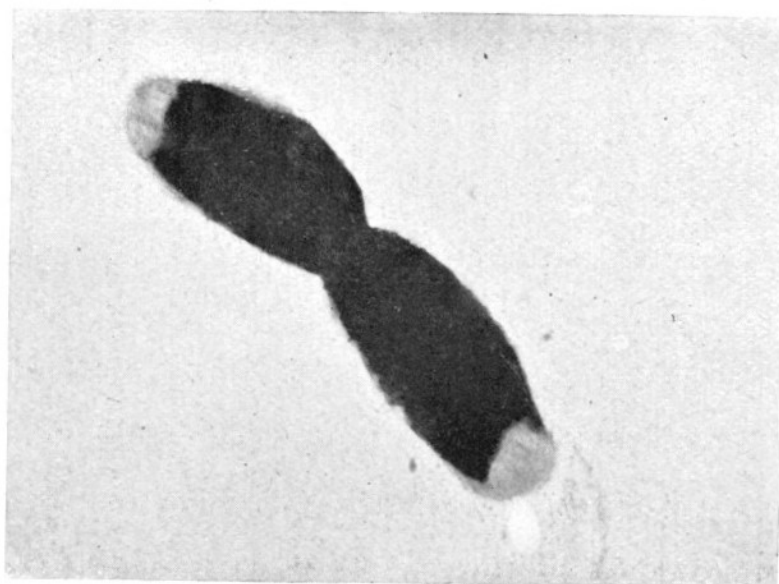


FIG. 15. - B. coli da brodo-cultura di 24 h. raccolto in soluzione fisiologica e tenuto a contatto per 48 h. con solfone

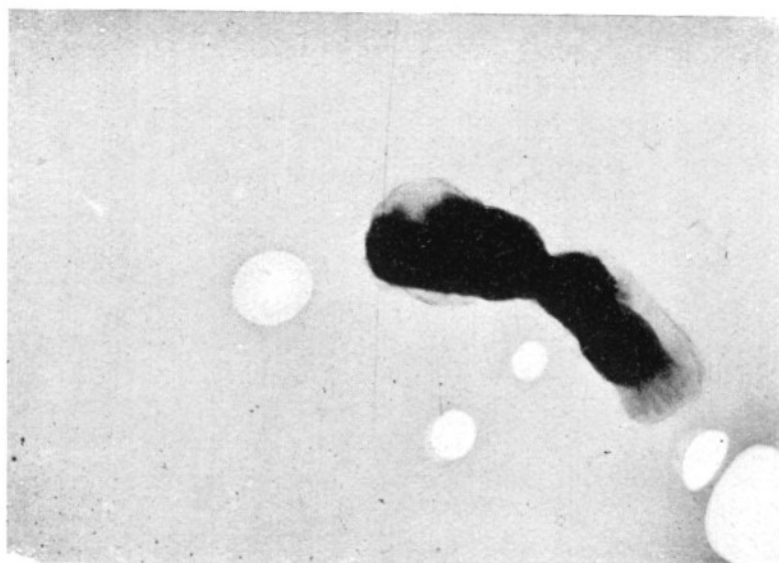


FIG. 16. - B. coli da brodo-cultura di 24 h. raccolto in soluzione fisiologica e tenuto a contatto per 48 h. con solfone

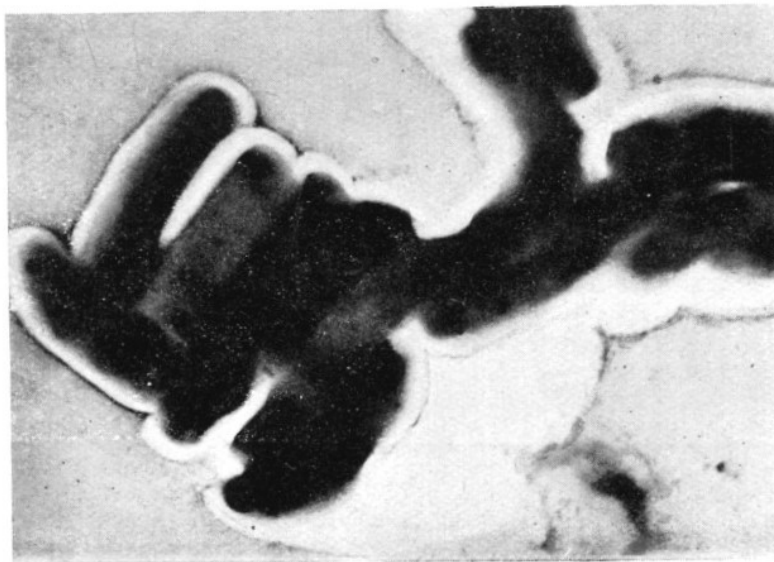


FIG. 17. - *Mycobacterium friburgensis* cresciuto in Sauton



FIG. 18. - *Mycobacterium friburgensis* cresciuto in Sauton

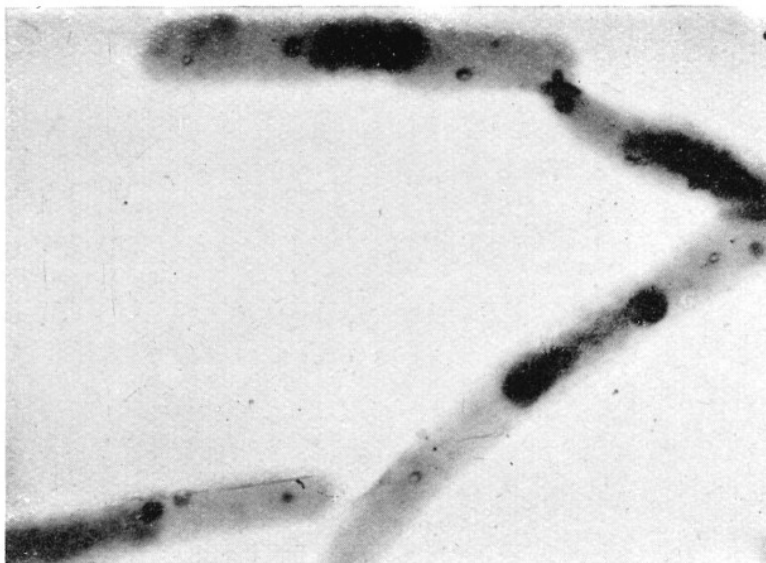


FIG. 19. - *Mycobacterium friburgensis* cresciuto in Twin 80
e osservato dopo 72 h

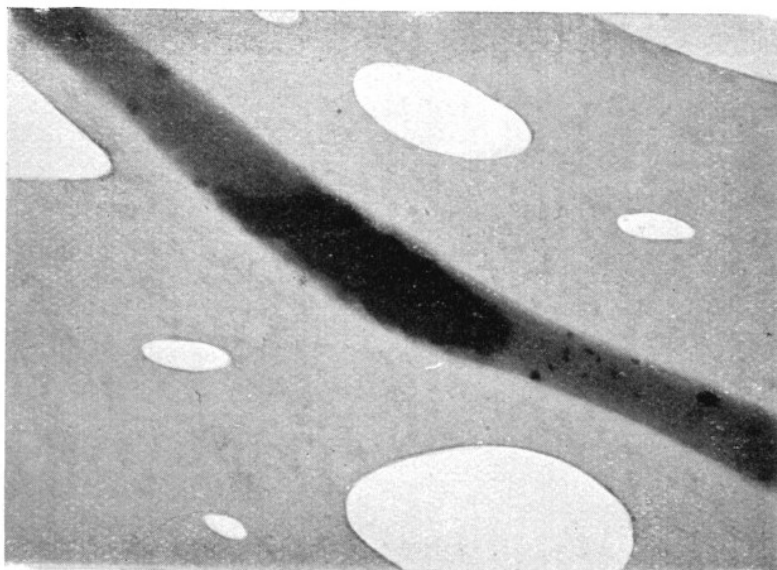


FIG. 20. - *Mycobacterium friburgensis* cresciuto in Twin 80
e osservato dopo 72 h.



FIG. 21. - *Mycobacterium friburgensis* trattato con dosi subinibenti di streptomicina

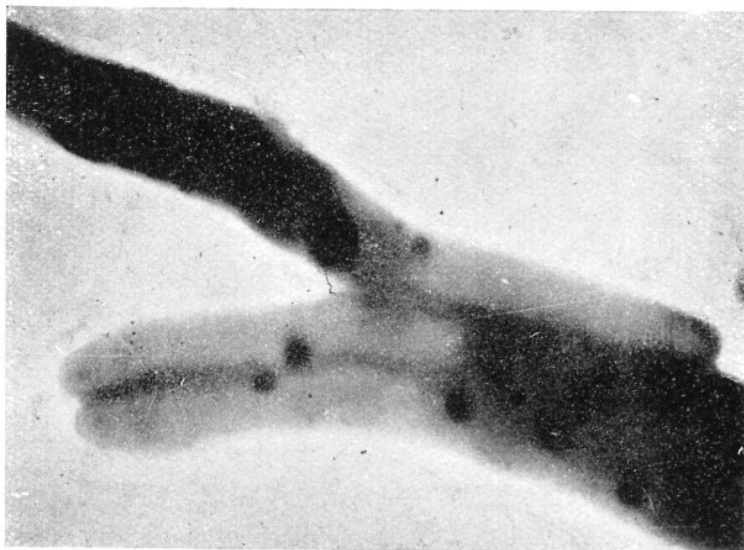


FIG. 22. - *Mycobacterium friburgensis* trattato con dosi subinibenti di streptomicina

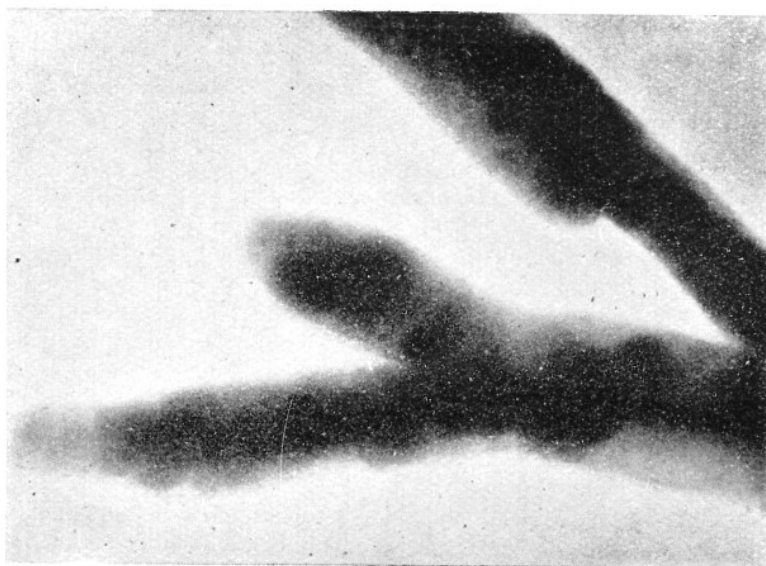


FIG. 23. - *Mycobacterium friburgensis* trattato con dosi subinibenti di streptomina



FIG. 24. - *Mycobacterium friburgensis* trattato con dosi subinibenti di solfone

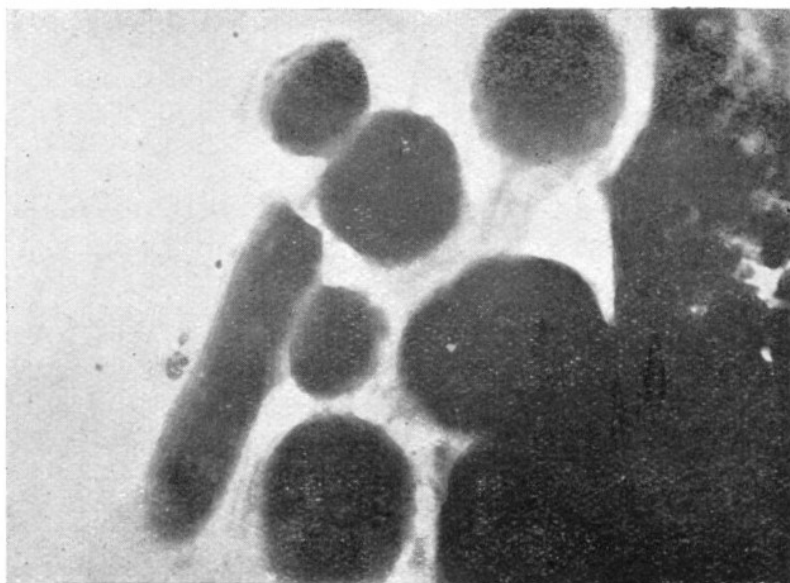


FIG. 25. - *Mycobacterium friburgensis* trattato con dosi subinibenti di solfone: caratteristiche le forme batteriche rotondeggianti

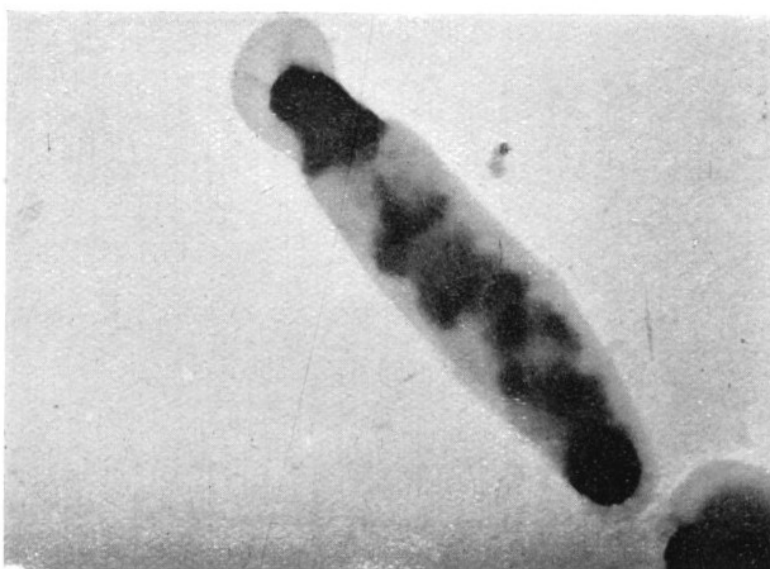


FIG. 26. - *B. coli* da brodo-cultura di 24 h. tenuto a contatto con streptomicina e solfone associati

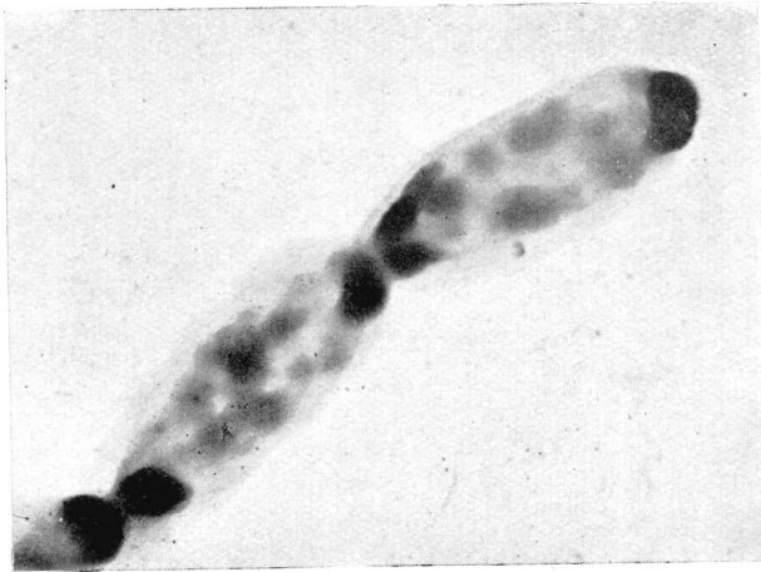


FIG. 27. - *B. coli* da brodo-cultura di 24 h. tenuto a contatto con streptomicina e solfone associati

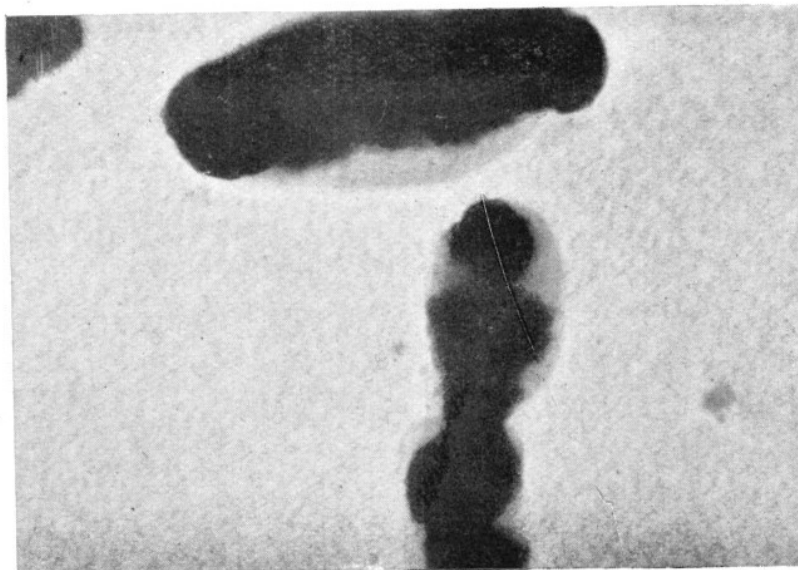


FIG. 28. - *B. coli* dopo 72 h. di contatto con streptomicina e solfone

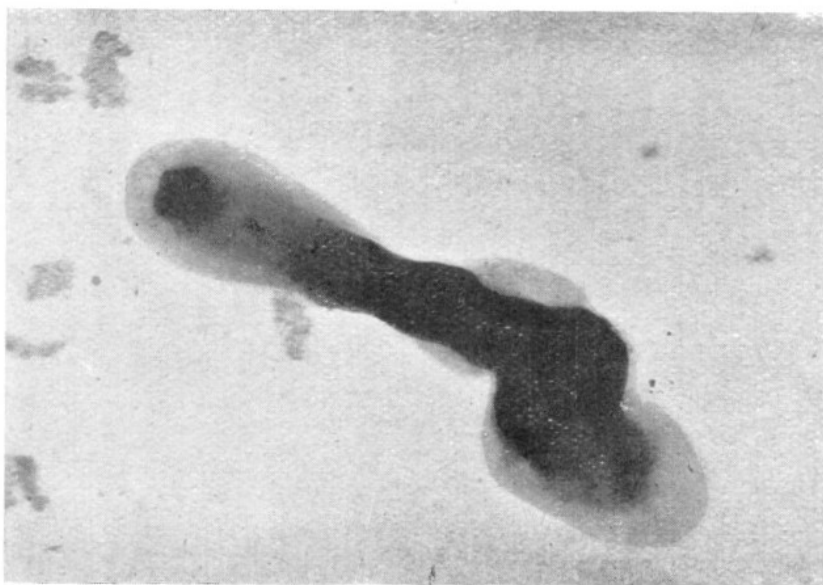


FIG. 29. - *B. coli* dopo 72 h. di contatto con streptomicina e solfone

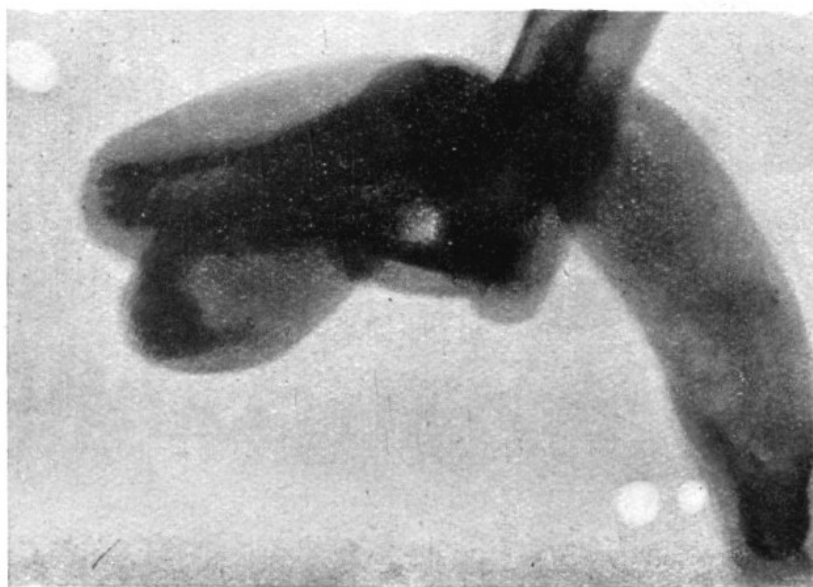


FIG. 30 - *B. coli* cresciuto a contatto con dosi subinibenti di alcool

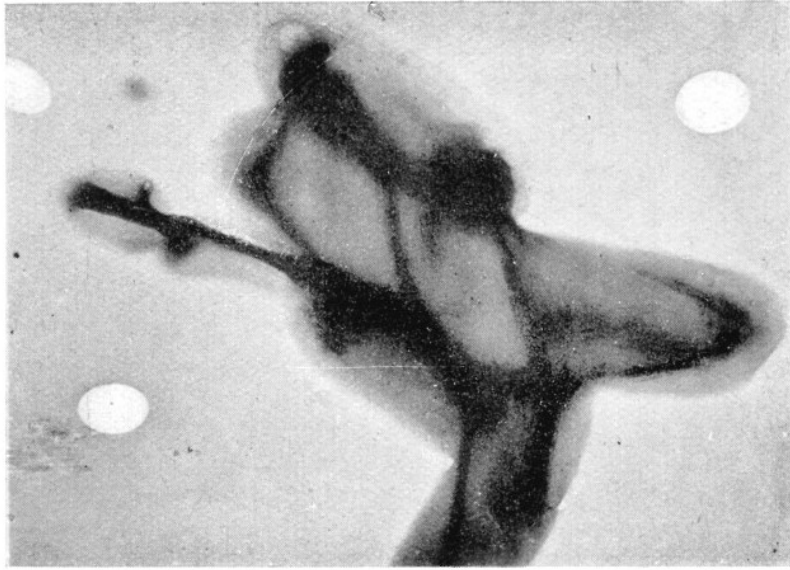


FIG. 31. - *B. coli* cresciuto a contatto con dosi subinibenti di alcool

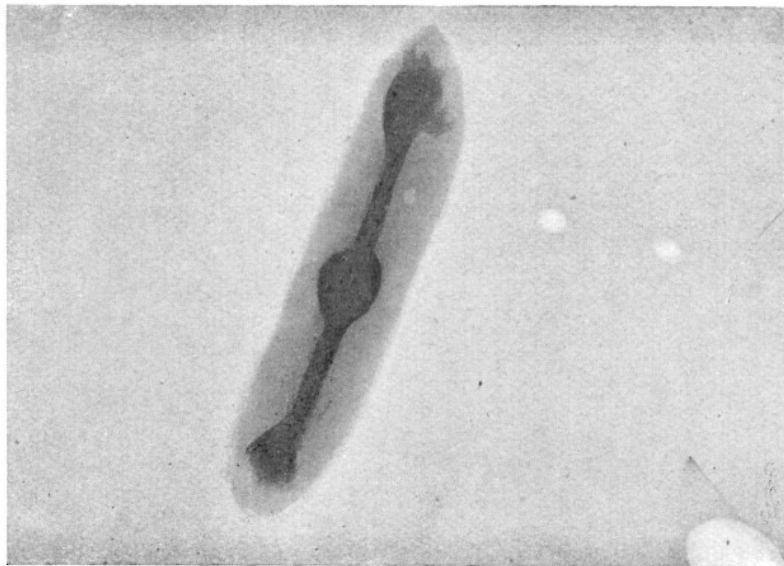


FIG. 32. - *B. coli* cresciuto a contatto con dosi subinibenti di alcool

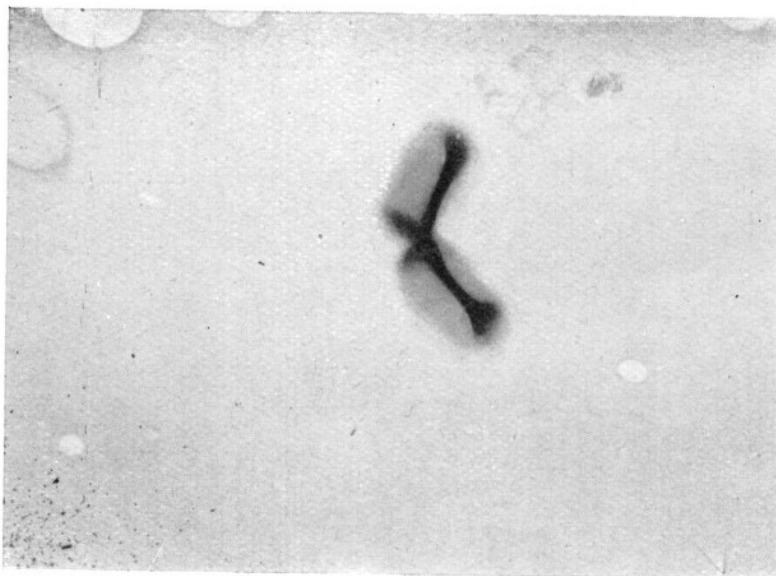


FIG. 33. - *B. coli* cresciuto a contatto con dosi subinibenti di alcool

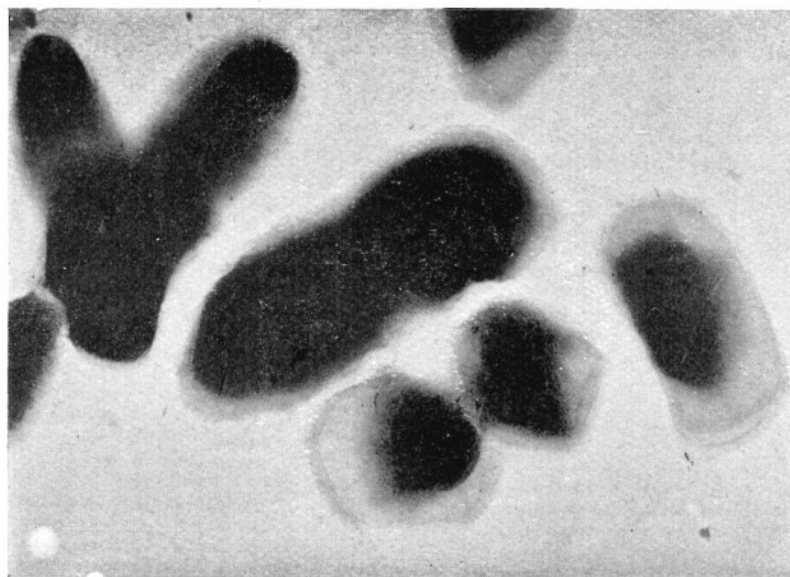


FIG. 34. - Azione di dosi subinibenti di formalina sul *B. coli*

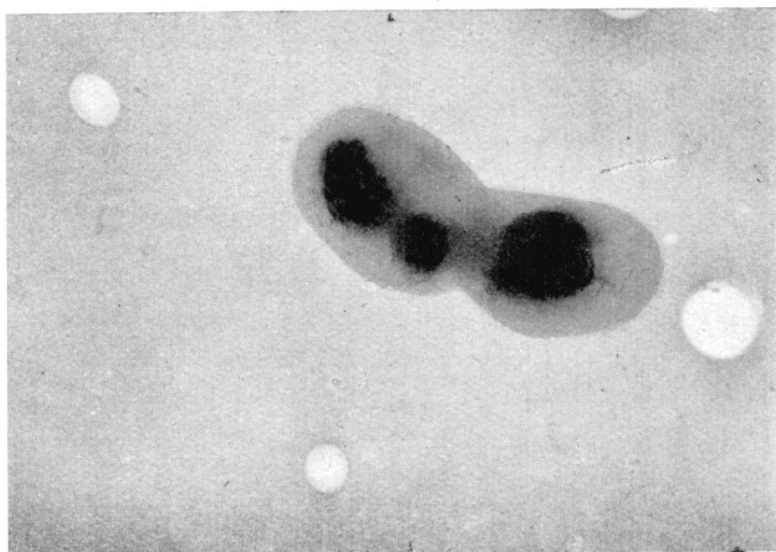


FIG. 35. - Azione di dosi subinibenti di acido fenico sul B. coli

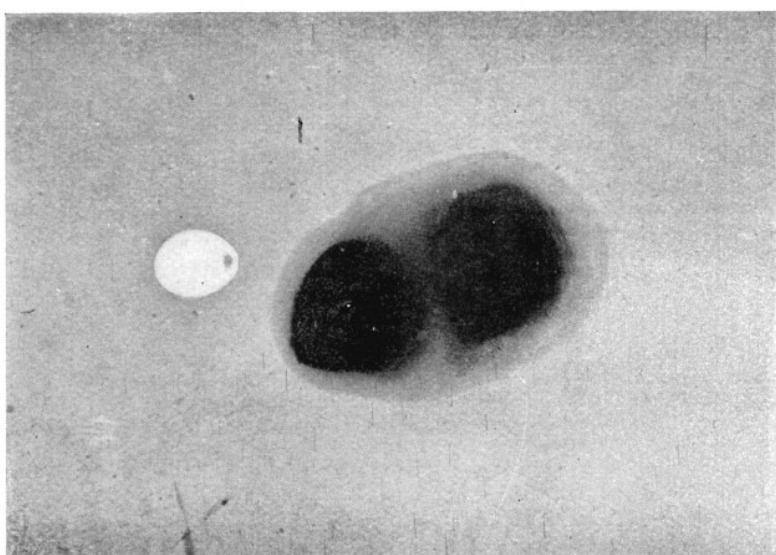


FIG. 36. - Azione di dosi subinibenti di acido fenico sul B. coli

alterazioni simili a quelle rispettivamente osservate impiegando separatamente la streptomicina e il solfone, ma con un grado d'intensità intermedia, nel senso che c'è qualche cosa di più delle semplici modifiche determinate dalla streptomicina e qualche cosa di meno delle notevoli alterazioni determinate dal solfone. Tali risultati sono confermati anche dalle due successive figure (28-29) in cui appunto le alterazioni ottenute dopo 72 h. di contatto con le due sostanze sono in complesso inferiori al disfacimento massimo ottenuto con il solfone da solo, ma in concentrazione doppia di quella attualmente impiegata.

5. — AZIONE DI ALCUNI DISINFETTANTI, IN DOSI SUBINIBENTI,
SUL B. COLI IN FASE BIOTICA

Abbiamo creduto interessante osservare al microscopio elettronico le modificazioni apportate sui germi da alcuni disinfettanti (alcool, acido fenico e formalina) in dosi subinibenti, per confrontarle con quelle osservate precedentemente, per azione della streptomicina e del solfone.

A) *Alcool*: La concentrazione subinibente dell'alcool a 95° C per il B. coli corrisponde alla diluizione, in brodo, 1:30; l'osservazione è stata compiuta dopo permanenza della brodocultura in termostato per 48 e 72 h.; le fig. 30-31-32-33 mostrano degli elementi allungati eccetto che nella fig. 33, dove invece appaiono piccoli e corti. Il corpo batterico mostra un fondo chiaro con degli ispessimenti disposti in senso longitudinale, per tutta la lunghezza del corpo batterico, e con dei rigonfiamenti centrali e periferici. Un elemento della fig. 30 mostra ancora un caratteristico addensamento apicale.

B) *Formalina*: per poter ottenere una concentrazione subinibente della formalina (noi abbiamo adoperato formalina Schering) siamo dovuti ricorrere ad una diluizione della sostanza 1:35.000-1:40.000. La fig. 34 mostra elementi provenienti da una brodocultura di B. coli, tenuta in termostato per 72 h.; i corpi batterici appaiono ingrossati, rigonfi, alcuni allungati, ma la maggior parte rotondeggianti, tozzi e piccoli; il protoplasma più o meno compatto occupa l'intero corpo batterico oppure mostra una certa coartazione e un distacco della membrana cellulare.

C) *Acido fenico*: la concentrazione subinibente dell'acido fenico (noi abbiamo adoperato ac. fenico cristallizzato Merk) è risultata 1:700; l'a-

spetto morfologico che assume il *B. coli* cresciuto in presenza di questo disinfettante dopo 72 h. di permanenza in termostato è caratterizzato da forme nettamente rotondeggianti, con coartazione centrale del protoplasma in un ammasso unico o duplice e con conseguente distacco della membrana cellulare (fig. 35-36).

In base a queste ricerche, compiute studiando al microscopio elettronico le alterazioni che i germi subiscono per azione della streptomicina, del solfone e di alcuni disinfettanti (alcool, acido fenico e formalina) possiamo trarre le seguenti conclusioni:

1) L'azione della streptomicina, in dosi piccole, si esplica prevalentemente, se non esclusivamente, sui germi in fase biotica e consiste essenzialmente in una rapida e progressiva chiarificazione del protoplasma batterico cosicchè, in ultima analisi, la membrana cellulare sembra non contenere più nulla, apparendo come un sacco vuotato del suo contenuto. Sui germi sospesi in soluzione fisiologica questa azione manca o per lo meno non si riesce più a mettere in evidenza con l'osservazione al microscopio elettronico.

2) Il solfone altera completamente la morfologia del germe in esame e, per quanto la sua azione sia maggiore sui microrganismi in fase di moltiplicazione, determina tuttavia anche delle modificazioni rimarchevoli sui germi mantenuti in anabiosi.

3) Sul *Mycobacterium friburgensis* l'azione sia della streptomicina che del solfone non è ben evidenziabile per difficoltà tecniche e perchè, impiegando nel terreno di cultura il Twin 80, questo interferisce sul meccanismo d'azione dell'antibiotico.

4) Sul *B. coli* l'associazione della streptomicina e del solfone rivela, al microscopio elettronico, alterazioni della morfologia batterica tali da lasciar supporre un'azione singola indipendente e non sinergica delle due sostanze.

5) Interessante è lo studio delle alterazioni determinate sul *B. coli* da alcuni disinfettanti in concentrazioni subinibenti; tali dosi sono risultate molto differenti da un disinfettante all'altro essendo necessario arrivare ad una diluizione nella brodocultura, di 1:30 per l'alcool a 95° C, di 1:700 per l'acido fenico e di ben 1:35.000-40.000 per la formalina.

Le alterazioni determinate dall'alcool danno un'aspetto tutto caratteristico al germe: noi non le abbiamo riscontrate in alcun'altra circo-

stanza. Le alterazioni date dalla formalina e dall'acido fenico sono invece molto simili fra loro: la nota predominante è un ingrossamento del corpo batterico con tendenza ad assumere una forma rotondeggiante.

Vedremo in seguito da ulteriori ricerche, se sarà possibile dare un significato ed una spiegazione alle differenti alterazioni osservate.

Roma. — Istituto Superiore di Sanità. Laboratorio di batteriologia. 16 giugno 1948.
