

Misc B73/85. 44

44-
85.

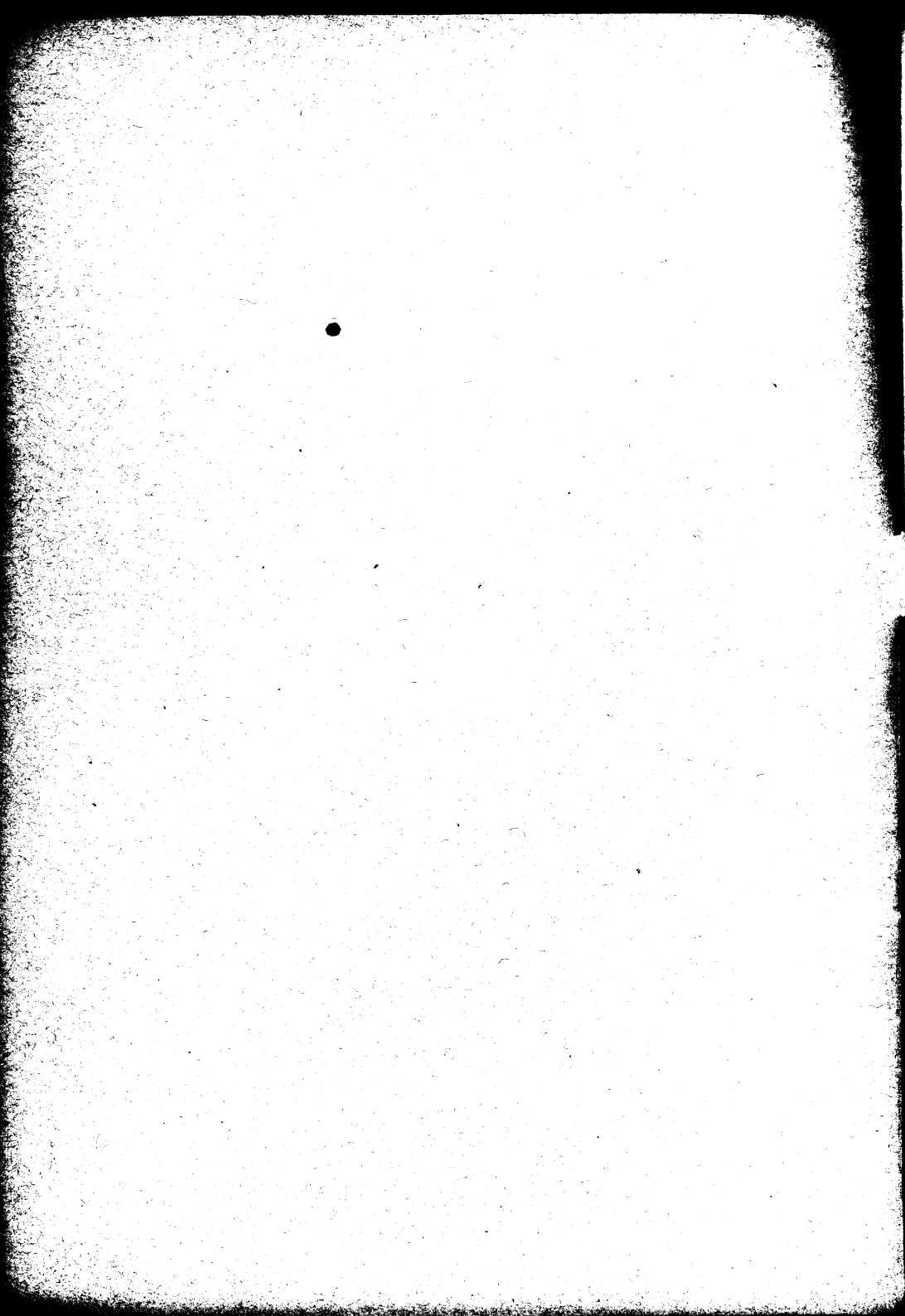
Prof. F. MAGRASSI e Dott. L. SCALFI

STUDI SU UN FATTORE AD AZIONE
AUTOBATTERIOSTATICA PRESENTE IN
ALCUNI CEPPI STAFILOCOCCICI.

Estratto dal BOLLETTINO E ATTI
DELLA R. ACCADEMIA MEDICA DI ROMA
Anno LXVII (1941-XIX) - Fasc. V



DITTA TIPOGRAFIA CUGGIANI
ROMA - VIA DELLA PACE, 33.
1941-XIX

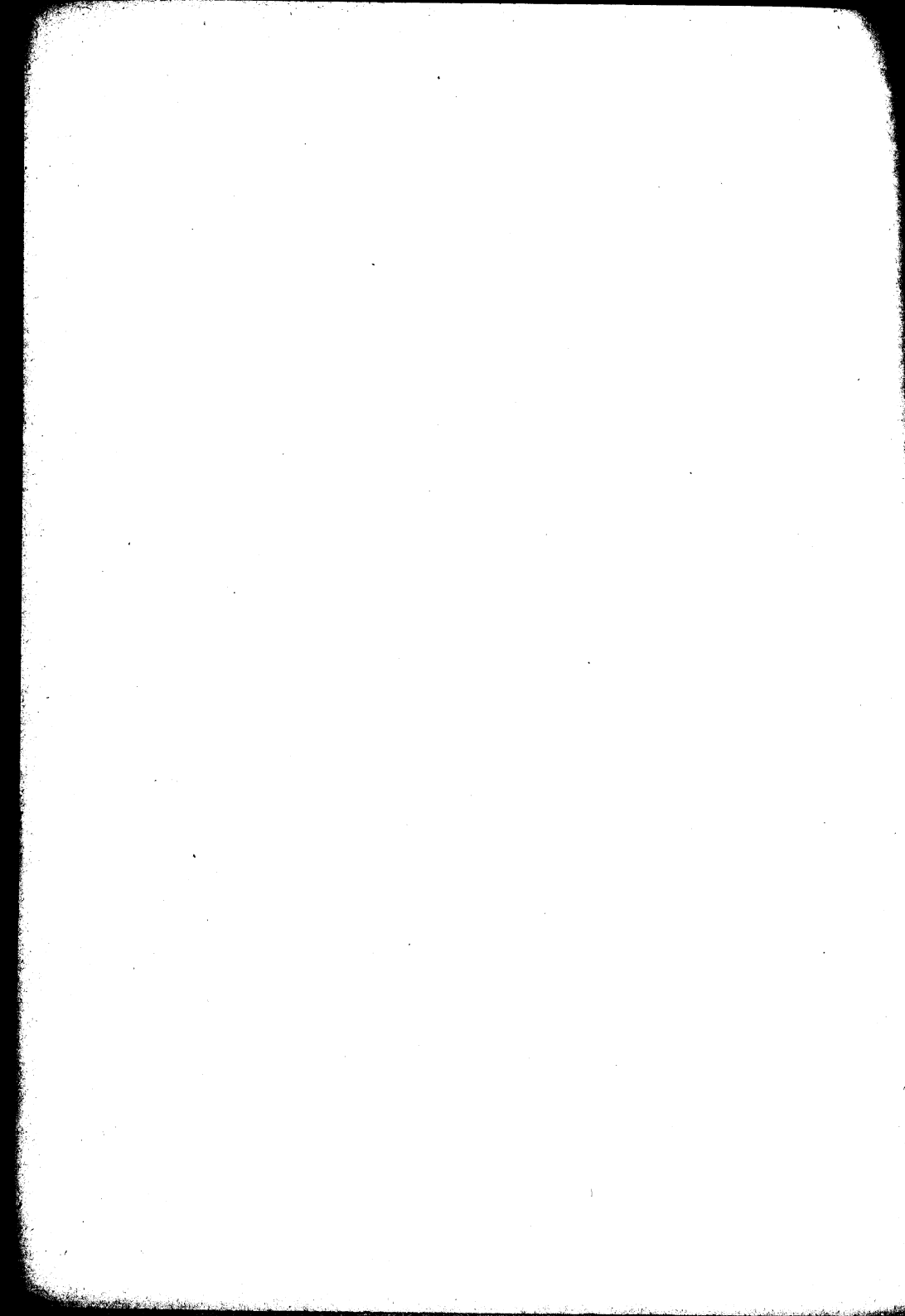


ISTITUTO DI CLINICA MEDICA GENERALE DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA
Direttore: PROF. C. FRUGONI

PROF. F. MAGRASSI E DOTT. L. SCALFI

**Studi su un fattore ad azione autobatteriostatica presente
in alcuni ceppi stafilococchi.**

*Comunicazione alla Seduta del 31 maggio 1941-XIX
della Reale Accademia Medica di Roma*



Già uno di noi [1], rendendo noto un caso di endocardite lenta sostenuto da uno stafilococco aureo, ha descritto le singolari caratteristiche biologiche possedute dal ceppo stafilococcico da qui isolato, riassumibili in una profonda inibizione al normale processo di moltiplicazione del germe, quando questo sia posto in adatte condizioni culturali. Veniva fin da allora fissata la legge fondamentale che sembrava dominare questo fenomeno d'inibizione moltiplicativa: essere cioè necessario per il suo rivelarsi, oltre che un adatto substrato culturale, anche un rapporto determinato tra la concentrazione iniziale dei germi e il volume, se liquido, o la superficie, se solido, dello stesso substrato culturale.

La constatazione che le caratteristiche biologiche riscontrate in questo ceppo stafilococcico non rappresentavano una singolarità di eccezione, ma che esse potevano essere dimostrate in altri ceppi di stafilococchi ricavati da materiali umani, e perfino potevano essere conferite artificialmente a ceppi stafilococcici inizialmente normali, ci parve accrescesse notevolmente l'importanza del fenomeno suddetto, e ci indusse a studiare a fondo, in tutti i suoi diversi aspetti, il problema. È così che nacque un vasto gruppo di ricerche, ed i risultati di una parte di esse ci accingiamo oggi a rendere noti.

Definiamo per ora come « fenomeno batteriostatico » quello in cui si rivela questa inibizione alla moltiplicazione del germe, e cerchiamo di precisare quali sono le modalità fondamentali che ne regolano l'estrinsecazione.

Fu innanzi tutto osservato che lavorando comparativamente con brodi o agar preparati con carni di animali appartenenti a specie diverse (coniglio, bue, cavallo) o anche con carni di animali diversi appartenenti alla stessa specie, si possono trovare grandi differenze nei risultati: mentre alcuni rivelano perfettamente il fenomeno batteriostatico, pur consentendo la crescita regolare degli stafilococchi normali, altri mascherano più o meno il fenomeno batteriostatico, in quanto anche il germe modificato tende per gradi ad avvicinarsi nella crescita al germe normale; questi ultimi corrispondono in genere a quei brodi che comparativamente ai primi consentono una crescita più abbondante e più rapida anche del germe normale.

Un secondo gruppo di ricerche si rivolse alla dimostrazione dell'influenza esercitata dai metaboliti batterici sul fenomeno batteriostatico, influenza che già dalle prime esperienze si era rivelata di fondamentale importanza. Potè infatti essere precisato che su terreno solido la crescita di una patina batterica (sia essa stafilococcica o anche di altra specie batterica quale ad esempio di *B. typhosum*) accanto al germe modificato, influenza profondamente la crescita di questo ultimo, tendendo ad inibire il fenomeno batteriostatico nelle zone adiacenti alla patina. Nello stesso senso ed evidentemente con lo stesso meccanismo agisce l'aggiunta al brodo o all'agar di filtrati di brodo-culture batteriche, di stafilococchi o di altri germi quali il tifo; così pure l'uso di agar molle (1%) facilita la dimostrazione del fenomeno batteriostatico, mentre l'uso di agar duro (4%) o di gelatina lo inibisce, in quanto il primo consente una più rapida diffusione dei metaboliti batterici, e quindi un minor accumulo di essi in vicinanza del germe in via di sviluppo, mentre in senso inverso agiscono l'agar duro e la gelatina.

Pure legate indirettamente a quest'ordine di fenomeni sono le osservazioni concernenti la facilitata dimostrazione del fenomeno batteriostatico quando si faccia crescere il germe alle temperature non ottimali (ad es. 20° invece che a 37°), in quanto in tal modo viene rallentata la moltiplicazione del germe e quindi l'accumulo dei suoi prodotti metabolici. Altrettanto è evidente che le differenze riscontrate tra le semine con grandi quantità di germi e le semine con dosi batteriche più modeste, in rapporto alla dimostrazione del fenomeno batteriostatico, debbono essere ricondotte al più rapido e più abbondante accumulo di metaboliti batterici che si ottiene utilizzando la prima tecnica in confronto alla seconda.

Risultati di grande interesse furono raccolti studiando l'influenza del pH del terreno sul fenomeno batteriostatico: potè infatti essere precisato che il fenomeno batteriostatico, almeno per la gran parte dei ceppi stafilococcici studiati, di cui alcuni isolati da materiali umani, ed altri artificialmente modificati partendo da un ceppo normale, si avvera entro limiti di pH relativamente ristretti, oscillanti intorno al neutro (tra pH 6,8 e pH 7,6), mentre per pH più nettamente acidi (tra 5 e 6,8) o più alcalini (al disopra di 7,6) si ha una crescita facilitata dal germe.

* * *

Partendo da questo primo blocco di ricerche, capace di conferire al « fenomeno batteriostatico » una sua caratteristica fisionomia biologica, proseguimmo nelle indagini, cercando di ulteriormente approfondire il meccanismo di azione del fattore inibitore sulla crescita, e quindi di chiarire

il diverso comportamento di brodi o agar diversi di fronte al fenomeno batteriostatico. Quest'ultimo problema infatti, che potrebbe apparire solo un secondario dettaglio di tecnica, ha invece un'importanza grande non solo per la comprensione del fenomeno in sè, ma anche per la sua riproducibilità, in quanto l'uso di un terreno culturale non adatto potrebbe totalmente mascherarlo, rendendo così difficile la ripresa e la estensione delle ricerche anche da parte di altri AA.

Fu constatato innanzitutto un fatto, che deve essere considerato altamente caratteristico: se il germe capace di presentare il fenomeno batteriostatico, viene posto in un mestruo liquido, sia esso brodo o soluzione-tampone indifferente, si nota rapidamente, in un lasso di tempo cioè variabile tra 3 e 5 ore, un incremento notevole nell'intensità dell'inibizione alla crescita del germe. Ciò porta alla conseguenza che inizialmente, appena passato dal terreno solido di partenza al mezzo liquido, il germe se trapiantato di nuovo su agar cresce relativamente bene se pure con tutti i caratteri di dissociazione e di lentezza descritti; invece durante le ore successive i trapianti dal mezzo liquido al terreno solido dimostrano che su quest'ultimo il germe diviene progressivamente sempre più inibito nella sua attività moltiplicativa, così da divenire praticamente incoltivabile su agar semplice, mentre continua a dare regolari colonie sull'agar sangue di controllo. Questo fenomeno, che raggiunge il suo massimo livello verso la 5^a-7^a ora dopo l'inseminamento del germe, mantenendo tale livello successivamente, non è influenzato dal pH del mestruo liquido, in cui il germe si trova sospeso, potendo questo variare indifferentemente tra pH 6 e pH 8; ciò induce a credere che se il pH, come abbiamo detto precedentemente, ha grande influenza sul manifestarsi del fenomeno batteriostatico, in quanto il germe viene inibito nella sua moltiplicazione solo ad un pH optimum di 7,2-7,6, invece assai poco o nulla influisce su quel fattore che agisce direttamente sul germe modificandone l'attività vitale e specie moltiplicativa, e che del fenomeno batteriostatico è quindi la causa prima ed essenziale. Si profila così fin d'ora la distinzione tra il fenomeno batteriostatico quale ci viene rivelato in determinate condizioni, e l'attività del fattore che agisce direttamente sul germe, modificandone la funzione moltiplicativa. Vedremo più avanti come altre osservazioni confermino la necessità di questa distinzione.

I germi, che posti nel mestruo liquido si sono mostrati incapaci di moltiplicazione e che hanno rivelato quel fenomeno di progressiva inibizione alla loro crescita ora ricordato, vanno successivamente incontro a una lenta, progressiva indimostrabilità, così che dopo 2-3 giorni i passaggi tentati dal mestruo liquido in altri terreni anche albuminati o al sangue risultano completamente negativi: in queste condizioni il germe

si deve ritenere « morto », se come indice della « morte » del germe si considera sufficiente l'incapacità assoluta alla sua moltiplicazione, anche nei terreni culturali più favorevoli.

Fenomeni analoghi a questi furono osservati per stafilococchi normali invecchiati con prolungata conservazione su agar (per 2-3 mesi a temperatura ambiente); si può perciò ritenere che il fattore modificatore del germe agisca su questo, inducendo nel suo plasma vivente una modificazione di vitalità che può essere qualificata come un rapidissimo processo di invecchiamento. Esiste tuttavia una differenza essenziale tra le modificazioni apportate lentamente sul germe dall'invecchiamento normale, e quelle espresse dal fenomeno batteriostatico: che cioè mentre le prime scompaiono rapidamente attraverso 1-3 subculture, ritornando rapidamente il germe così ringiovanito al suo aspetto normale, le seconde sono invece trasmissibili indefinitamente in serie nelle subculture.

* * *

Ma attraverso quale meccanismo si può pensare che intervenga nel germe questa profonda diminuzione dell'attività moltiplicativa?

Crediamo di poter in parte rispondere a questa domanda, precisando da un lato le condizioni che rivelano questa insufficienza funzionale moltiplicativa del germe, e dall'altro quelle che la attenuano o la mascherano totalmente.

Le condizioni più importanti, che rivelano questa particolare caratteristica del germe, da un lato si identificano con tutte quelle che rallentano in senso generico la velocità di moltiplicazione del germe, come la bassa temperatura, dall'altro corrispondono a tutte le modalità che si oppongono al rapido accumulo dei prodotti metabolici del germe stesso, come l'uso di terreni solidi in cui la diffusione dei metaboliti sia facilitata, quale si ha ad es. nell'agar molle in confronto all'agar duro o alla gelatina, e la semina con dosi relativamente piccole di germi; un altro gruppo di condizioni, che riesce invece più difficile ad essere analizzato nei suoi substrati causali, è dato dal particolare comportamento favorente sul fenomeno batteriostatico che già di per sé dimostrano alcuni brodi o agar in confronto ad altri.

Le condizioni che attenuano o mascherano il fenomeno batteriostatico sono date naturalmente da tutte quelle che sono opposte alle precedenti, e cioè che aumentano la velocità di moltiplicazione del germe, e che facilitano il rapido accumulo dei suoi prodotti metabolici; rientra indirettamente in questo gruppo di condizioni l'uso di terreni che già di

per sè si presentano più atti in confronto ad altri alla crescita dello stafilococco, come alcuni brodi o agar, o che tale azione favorente acquistino in seguito all'aggiunta di sieri o di filtrati di brodoculture batteriche.

Nel complesso, ci parve che la chiave del problema consistesse appunto nel chiarimento di questo quid, che se presente nel terreno, sia esso derivato direttamente dalla carne con cui il brodo o l'agar furono preparati, sia aggiunto sotto forma di siero, o di metabolita batterico, gli conferisce la capacità di attenuare o mascherare il fenomeno batteriostatico.

Passando in rassegna tutti i diversi componenti dei terreni usati, credemmo di poter fermare la nostra attenzione sul cosiddetto « fattore di accrescimento » dello stafilococco.

È noto che lo stafilococco appartiene a quella categoria di germi che hanno esigenze nutritive complesse, e cioè non possono essere coltivati su terreni basati su composti relativamente semplici di carbonio e di azoto. Ma ciò non basta: per lo stafilococco, a somiglianza di quello che si ha per altri germi, fu isolato un « fattore di accrescimento », a struttura complessa e ad azione stimolante o similvitaminica, senza il quale il germe, anche se posto su un substrato culturale complesso, non riesce a moltiplicarsi. Questo « fattore di accrescimento » è contenuto in quantità diverse negli estratti di organi, quindi anche nei comuni brodi di carne, e solo raramente in alcuni peptoni, e può essere sintetizzato e quindi ceduto da altri germi cresciuti su terreni sintetici semplici (come il *b. typhosum*); esso è contenuto pure in grande quantità nei filtrati culturali, oltre che di questi ultimi germi, anche dello stafilococco, dovendosi quindi ritenere eliminato insieme agli altri metaboliti batterici.

KNIGHT [2] e KOSER, FINKLE, DORFMAN, JORDAN e SAUNDERS [3], studiando comparativamente diverse sostanze, riuscirono a dimostrare che una miscela di acido nicotinico e di vitamina B_1 , presentava una discreta azione attivante sulla crescita stafilococcica, per cui l'associazione di queste due vitamine viene considerata come corrispondente almeno in parte nella sua azione al più complesso « fattore di accrescimento » presente negli estratti di tessuti animali o negli estratti batterici.

Sulla base di queste conoscenze, e fondandoci sul parallelismo di comportamento presentato dal quid influenzante il fenomeno batteriostatico e il « fattore di accrescimento » (i brodi meno adatti alla dimostrazione del fenomeno batteriostatico sono anche quelli che più attivamente facilitano la crescita dello stafilococco normale, l'aggiunta ai brodi di sostanze ricche di « fattore di accrescimento » come il siero di sangue o un filtrato batterico maschera il fenomeno batteriostatico) pensammo che i germi in esame potessero presentare una difficoltà utilizzazione del « fattore di accrescimento » o una maggiore esigenza quantitativa di esso: da ciò si dedur-

rebbe che il fenomeno batteriostatico, ossia la inibizione alla crescita di questi germi, si manifesta solo in quelle condizioni culturali, che non forniscono al germe il fattore di accrescimento in quantità notevolmente superiore a quella sufficiente per attivare la crescita del germe normale o in una forma in cui sia facilmente utilizzabile da parte del germe.

La conferma di questo modo di vedere fu cercata attraverso modalità tecniche, che modificassero il terreno culturale nel senso di un allontanamento o di una diminuzione del « fattore di accrescimento » o nel senso più lato di un danneggiamento dell'attività funzionale di esso: queste modalità furono realizzate a mezzo di processi di adsorbimento con carbone, secondo la tecnica di KOSER e SAUNDERS [4], o a mezzo dell'aggiunta di rame (sotto forma di CuSO_4) secondo la tecnica di O'MEARA e MACSWEEN [5]¹. Quest'ultima si dimostrò particolarmente semplice ed adatta allo scopo, in quanto permettendo di diminuire progressivamente, a seconda delle quantità di solfato di rame aggiunte, l'attività funzionale del fattore di accrescimento, consente di portare in qualsiasi terreno tale attività ad un livello capace di permettere nel tempo stesso una crescita perfetta degli stafilococchi normali e l'optimum di dimostrabilità del fenomeno batteriostatico.

In tal modo poté essere largamente documentato che all'influenza del fattore di accrescimento erano dovuti, almeno in gran parte, il diverso comportamento di diversi brodi o agar di fronte al fenomeno batteriostatico, e l'azione inibente esercitata su questo dall'aggiunta di siero o di metaboliti batterici. Rimaneva ancora l'obiezione che l'aggiunta di siero o di metaboliti batterici potesse agire sul fenomeno batteriostatico, direttamente proteggendo il germe dall'azione del fattore che modifica la funzione moltiplicativa.

¹ O'MEARA e MACSWEEN [5] non parlano nel loro lavoro della possibilità che il solfato di rame, nelle dosi da essi usate, possa modificare il terreno culturale agendo sul « fattore di accrescimento ». Noi crediamo tuttavia, che i fatti dimostrati da questi AA. e che in parte abbiamo noi stessi controllato, possano oggi permettere di concludere in questo senso: infatti il solfato di rame, entro i limiti delle dosi usate, non agisce affatto sul germe, ma solo sul terreno culturale; la modificazione che esso induce sul terreno è tale da impedire la crescita del germe normale, solo quando sia insemato in piccole quantità, mentre gli insemamenti abbondanti permettono una crescita normale del germe; ciò dimostra che non vengono modificate le capacità fondamentali nutritive del terreno, ma solo viene invece ad essere notevolmente diminuita la capacità del terreno di indurre nel germe l'iniziale attività moltiplicativa. Ora, quest'ultima è appunto la caratteristica essenziale attraverso la quale si esprime nel terreno di cultura l'attività funzionale del « fattore di accrescimento ».

Ma questa possibilità fu esclusa a mezzo della dimostrazione che il siero aggiunto a un liquido tampone permette come di norma quella progressiva diminuzione delle capacità moltiplicative del germe immesso nel substrato liquido, che abbiamo già detto essere una delle caratteristiche essenziali degli stafilococchi studiati; però, nonostante questo, il siero aggiunto consente che a un determinato momento il germe inizi nel substrato liquido la crescita, che avviene poi normalmente.

Un fenomeno analogo a quest'ultimo, sul quale già precedentemente abbiamo richiamato l'attenzione, fu osservato anche per quei pH che si allontanano da quello optimum a cui il fenomeno batteriostatico si rivela: a pH acidi od alcalini il germe può crescere normalmente, pur dimostrandosi in queste condizioni su di esso ugualmente attivo il fattore che ne inibisce progressivamente la funzione moltiplicativa. Si deve perciò ritenere probabile, che a quei pH, a cui il germe cresce nonostante l'attività del fattore che ne modifica la funzione moltiplicativa, il terreno culturale offra una più facile utilizzazione del fattore di accrescimento da parte del germe, analoga a quella che si presenta a causa della aggiunta di siero o di metaboliti batterici. Viene così ad essere confermata per altra via la necessità di una distinzione tra fenomeno batteriostatico in sè, che ci rivela in determinate condizioni la caratteristica funzionale del germe, espressa dall'inibizione alla sua moltiplicazione, e la causa prima ed essenziale di tale caratteristica funzionale, che si identifica nell'attività del fattore che agendo direttamente sul germe ne modifica la funzione moltiplicativa.

Quest'ultima considerazione porta anche indirettamente a concludere, che le leggi dominanti la crescita del germe sono del tutto estranee a quelle che regolano l'attività del fattore che agisce direttamente sul germe modificandone la funzione moltiplicativa, e quindi che quest'ultimo può essere considerato come un quid differenziabile dal germe o ad esso aggiunto. È perciò che, indipendentemente dalla definizione che potrà essere data della sua natura, proponiamo che a tale fattore modificatore venga posto il nome di « batteriostato », in quanto appunto attraverso quest'azione auto-batteriostatica si rivela la sua presenza nel germe.

* * *

Dopo l'esposizione di questo primo nucleo di risultati, ci si può chiedere quali rapporti possono esistere tra il fenomeno batteriostatico da un lato, e dall'altro il fenomeno batteriofagico e le osservazioni relative alle microcolonie *G* di HADLEY, studiate per lo stafilococco da HOFFSTADT e YOUMANS [6].

Per quanto riguarda la batteriofagia, riferirò SCALFI a suo tempo più estesamente, avendo egli in un complesso di ricerche approfondito il problema, e messo chiaramente in evidenza le analogie e le differenze esistenti tra i due fenomeni. Qui possiamo sinteticamente affermare che queste ultime sono così sostanziali e di tale importanza, da rendere assolutamente vano ogni tentativo di avvicinamento.

Anche relativamente semplice risulta la differenziazione tra i germi che presentano il fenomeno batteriostatico, e quelli che dimostrano nella crescita il tipo *G* (o gonidiale) di colonia. Soprattutto importanti sono le diversità riscontrate nella crescita in substrati liquidi: infatti gli stafilococchi con colonie di tipo *G* presentano una moltiplicazione più lenta in confronto allo stafilococco normale, ma non dimostrano mai quel fenomeno di progressiva inibizione della funzione moltiplicativa, ch'è caratteristica fondamentale dei germi da noi studiati, nè la incapacità assoluta alla moltiplicazione e la tendenza alla morte che presentano questi ultimi quando siano insemenzati entro determinati limiti quantitativi. Inoltre su terreno solido, risulta meno evidente per i primi la diversità di crescita in funzione dell'attività del fattore di accrescimento; e per questi le macrocolonie, che appaiono molto frequentemente accanto alle microcolonie, rappresentano un ritorno alla forma liscia normale, cosicchè una volta apparse tali si mantengono nei passaggi successivi; invece per i germi da noi studiati la crescita in macro- o microcolonie esprime semplicemente la possibilità che ha il fenomeno batteriostatico di rivelarsi in modo più o meno evidente, in funzione delle condizioni contingenti dello sviluppo del germe, che perciò mantiene indefinitamente nelle subculture la sua caratteristica inibizione moltiplicativa sia che si parta da una microche da una macrocolonia.

* * *

Resta ora da precisare quale sia la natura del fattore che, agendo direttamente sul germe, induce su questo quelle modificazioni di cui il fenomeno batteriostatico è la principale espressione. Abbiamo già accennato alle prove indirette, che consentono di attribuire presumibilmente a tale fattore un'individualità distinta dal germe, così da giustificare per esso la denominazione di « batteriostato ».

Ma era naturale che fin dall'inizio di queste ricerche tentassimo una via diretta capace di definirne la natura. Ed essa fu soprattutto cercata attraverso la trasmissibilità *in vitro* o *in vivo* del batteriostato a stafilococchi normali. Diciamo subito che le numerosissime e complesse esperienze ese-

guite in questo senso non ci hanno dato risultati così costanti ed univoci da consentirci di enunciare una conclusione definitiva. Ci limitiamo per ora ad esporre riassuntivamente i dati di fatto, e a prospettare quale ne possa essere una delle interpretazioni.

La trasmissione *in vitro*, ponendo in contatto un ceppo di stafilococco normale sia con filtrati di brodoculture di uno degli stafilococchi presentanti il fenomeno batteriostatico, sia con materiali diversi (plasma, urine) tratti da individui da cui erano stati isolati uno o più ceppi di stafilococchi modificati, risultò positiva in un certo numero di esperienze: ma tale positività fu così saltuaria ed irregolare che, non potendo essere precisate le condizioni della sua riproducibilità, fu ritenuto inopportuno di insistere su questa via.

Risultati ben più costanti e quindi più importanti furono invece ottenuti nei tentativi di trasmissione *in vivo*: i tessuti (cute, testicolo) di conigli inoculati per via intradermica o per via intratesticolare con stafilococchi presentanti il fenomeno batteriostatico, o con i filtrati di brodoculture da essi derivati, o con materiali (plasma, urine) tratti da individui portatori di stafilococchi modificati, divengono capaci di indurre nello stafilococco normale, iniettato in essi dopo tempi diversi dal primo trattamento (da 6 a 95 giorni), la stessa modificazione dell'attività moltiplicativa, osservata nei germi di partenza.

Le esperienze ripetute moltissime volte con un solo ceppo di stafilococco albo, che si era rivelato fin dalle prime prove modificabile nel senso voluto, diedero risultati molto univoci e relativamente costanti: dopo essere rimasti un certo numero di giorni (da 5 a 7) nei tessuti dell'animale pretrattato, gli stafilococchi che si ricavano in piccolo numero dalla manifestazione ascessuale risultano in una percentuale variabile, ma sempre rilevante (nel totale 92 su 348 ceppi studiati = 26,43 %) modificati così da presentare nelle culture *in vitro* il « fenomeno batteriostatico ». Risultati simili a questi si ottengono anche pretrattando gli animali con gli stessi materiali riscaldati fino a 100° per $\frac{1}{2}$ h. ed è opportuno a questo proposito ricordare che anche portando a 90° per $\frac{1}{2}$ h. una sospensione di stafilococchi presentanti il « fenomeno batteriostatico », si osserva che i pochi elementi batterici superstiti conservano la loro caratteristica inibizione alla crescita.

Risultati invece negativi furono ottenuti iniettando in conigli normali il ceppo stafilococcico, scelto come testo di prova.

I ceppi di stafilococchi, che si dimostrano suscettibili di subire la modificazione descritta, sono probabilmente assai rari, giacchè tra i numerosi ceppi da noi studiati solo 2 si rivelarono adatti a questo scopo.

Ad ogni modo, seguendo questa tecnica e valendosi di un ceppo stafilococcico già constatato capace di modificarsi nel senso voluto, si raggiunge la convinzione che i tessuti di organismi venuti a un certo momento in contatto con determinati materiali, divengono capaci di indurre nel germe usato come testo una modificazione rivelabile attraverso il « fenomeno batteriostatico ».

È questo un argomento di grande importanza che ci sembra appoggiare l'individualità del fattore da noi denominato « batteriostato »: questo, in base ai fatti suesposti, potrebbe essere considerato come un elemento filtrabile, che, dissociabile dal germe, può essere trasmesso e mantenuto nei tessuti di un organismo animale, i quali divengono così successivamente capaci di cederlo a stafilococchi normali venuti con essi in contatto; unendosi al germe normale, il batteriostato gli imprimerebbe la caratteristica inibizione alla crescita, che si manifesta *in vitro* attraverso il « fenomeno batteriostatico ».

Seguendo questa interpretazione, potrebbe anche essere per tale elemento prospettata la natura di ultravirus. Si oppongono ad essa le due caratteristiche che sembrano discostarsi da ciò che è risaputo essere la norma per elementi rientranti nella categoria degli ultravirus: la non costante e relativamente difficile trasmissibilità dal germe che ne è portatore al germe normale, e la non comune termoresistenza.

Tuttavia noi conosciamo già altri esempi, che offrono indubbiamente delle analogie profonde con i fenomeni da noi descritti, e per i quali si tende oggi ad ammettere un agente causale virus-simile. Vogliamo qui accennare particolarmente a ciò che si è osservato per lo pneumococco: i risultati ottenuti da GRIFFITH [7], da NEUFELD e LEVINTHAL [8], da DAWSON e SIA [9], da ALLOWAY [10, 11] sulla possibilità di trasformare *in vivo* e *in vitro* pneumococchi dalla forma R alla forma S dei diversi tipi specifici a mezzo dell'uso di filtrati ottenuti da pneumococchi di ogni singolo tipo, contemplano infatti quelle stesse caratteristiche di incostanza, soprattutto nelle prove *in vitro*, di più facile riproducibilità *in vivo* che *in vitro* e di relativa termoresistenza che noi stessi abbiamo riscontrato nei nostri tentativi di trasmissione del « batteriostato ». Ora STANLEY [12], a cui dobbiamo una delle più meravigliose conquiste nello studio degli ultravirus, e cioè la purificazione e la cristallizzazione delle virus-proteine, pone senz'altro nella categoria degli ultravirus l'agente determinante la trasformazione del pneumococco, e quindi il fattore essenziale capace di far assumere a questo germe il carboidrato specifico di tipo che gli conferisce la caratteristica virulenza.

Il campo già così vasto e forse già fin d'ora non del tutto omogeneo degli ultravirus, può trovare in questi nuovi orientamenti di ricerca insospettite estensioni, capaci di apportare profonde modificazioni alle conoscenze attuali sulla biologia dei batteri, ed anche alle nostre attuali concezioni eziopatogenetiche.

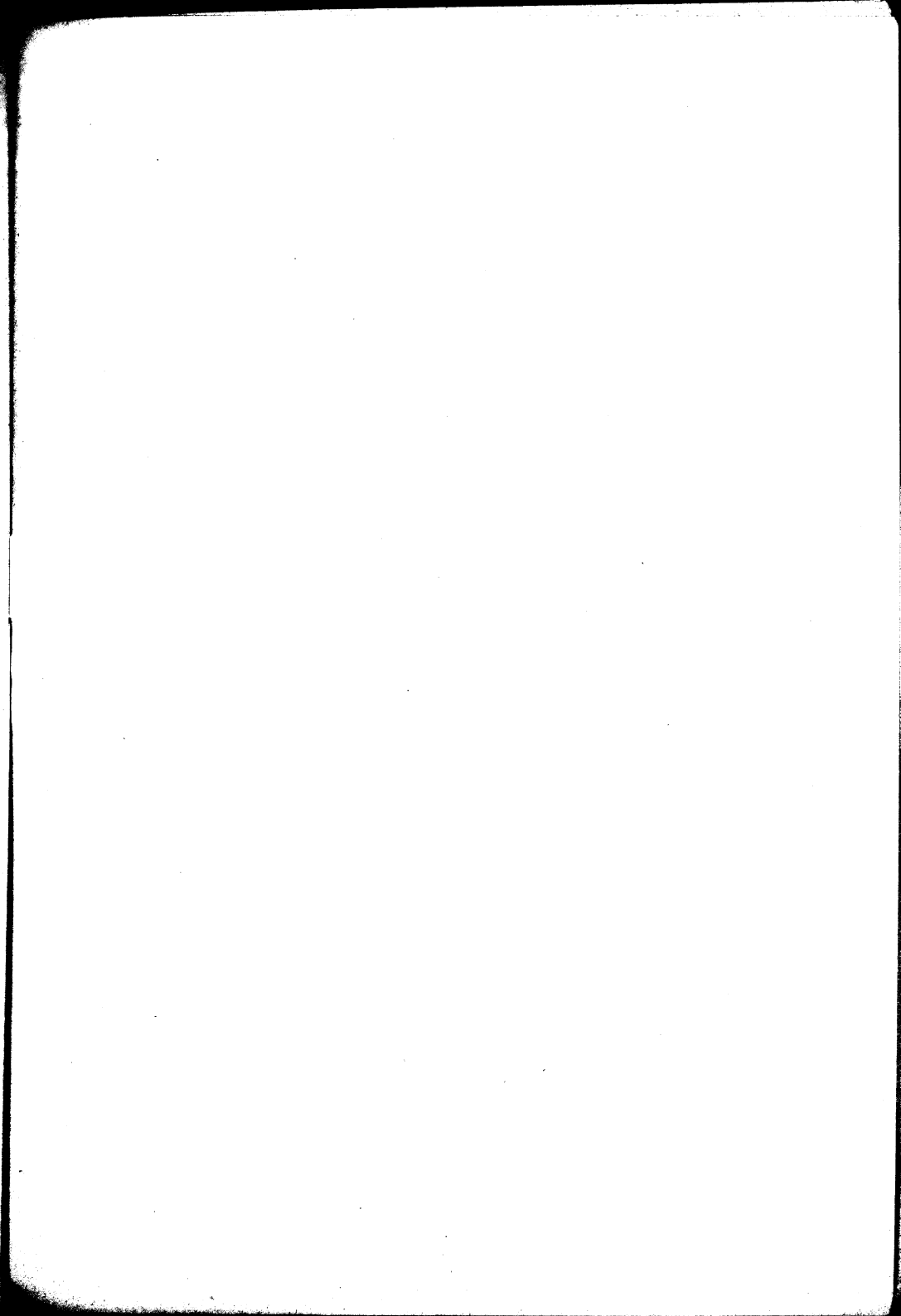
RIASSUNTO. — Gli AA. definiscono come « fenomeno batteriostatico » quello in cui si rivela quella profonda inibizione al normale processo di moltiplicazione del germe, riscontrata inizialmente in un ceppo stafilococcico isolato da un caso di endocardite lenta, e successivamente dimostrata presente in altri ceppi stafilococchi isolati da materiali umani, o conferita artificialmente a ceppi stafilococchi inizialmente normali.

Essi precisano i diversi fattori che influenzano il rivelarsi del fenomeno batteriostatico: la qualità del terreno di cultura, i metaboliti batterici, la temperatura di crescita, la quantità dei germi insemnati, il pH del terreno. Nello studio del meccanismo con cui interviene nel germe la profonda diminuzione dell'attività moltiplicativa, furono raccolte numerose prove che sembrano appoggiare l'interpretazione che questa sia dovuta a una difficoltà di utilizzazione del « fattore di accrescimento » dello stafilococco o a una maggiore esigenza quantitativa di esso.

Viene discussa e definita l'individualità biologica del fattore, che agendo direttamente sul germe, ne modifica l'attività moltiplicativa, così da causare la insorgenza del fenomeno batteriostatico, e viene proposto per tale fattore il nome di « batteriostato ». La dimostrata possibilità di trasmettere *in vitro*, e più facilmente *in vivo* il batteriostato a stafilococchi normali dà occasione a discutere sulla natura di tale fattore, che viene ravvicinato per le comuni caratteristiche virus-simili all'agente determinante la trasformazione del pneumococco.

AUTORI CITATI

- [1] MAGRASSI, *Su un caso di endocardite lenta da stafilococco aureo: singolari proprietà biologiche del germe isolato.* « Boll. e Atti R. Accad. Med. - Roma », 65, 146, 1940.
- [2] KNIGHT, *The nutrition of staphylococcus aureus: nicotinic acid and vitamin B₁.* « Biochem. J. », 31, 731, 1937.
- [3] KOSER, FINKLE, DORFMAN, JORDAN e SAUNDERS, *A comparative study of the growth-promoting properties of various substances.* « J. Infect. Dis. », 62, 209, 1938.
- [4] KOSER e SAUNDERS, *Separation of growth-factors from veal infusion.* « J. Infect. Dis. », 56, 305, 1935.
- [5] O'MEARA e MACSWEEN, *The failure of staphylococcus to grow from small inocula in routine laboratory media.* « J. Path. a. Bact. », 43, 373, 1936.
- [6] HOFFSTADT e YOUNG, *Staphylococcus aureus. Dissociation and its relation to infection and to immunity.* « J. Infect. Dis. », 51, 216, 1932.
- [7] GRIFFITH, *Significance of pneumococcal types.* « Jour. of Hyg. », 27, 113, 1928.
- [8] NEUFELD e LEVINTHAL, *Beiträge zur Variabilität der Pneumokokken* « Ztschr. f. Imm.forsch. », 55, 324, 1928.
- [9] DAWSON e SIA, *In vitro transformation of pneumococcal types.* « Jour. Exp. Med. », 54, 681, 1931.
- [10] ALLOWAY, *The transformation in vitro of R pneumococci into S forms of different specific types by use of filtered pneumococcus extracts.* « Jour. Exp. Med. », 55, 91, 1932.
- [11] ALLOWAY, *Further observations on the use of pneumococcus extracts in effecting transformations of type in vitro.* « Jour. Exp. Med. », 57, 265, 1933.
- [12] STANLEY, *Biochemistry and biophysics of viruses.* « Doerr u. Hallauer - Hdb. d. Virusforsch. », 1, 941, 1938.



345228

