ATTI

DELLA

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCI.

1904

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XIII.

1° Semestre.

ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1904

fidarsi dopo le ricerche del Fischer e di altri che ne dimostrarono la incertezza, sia che si consideri la localizzazione microchimica del fosforo, per lo studio della quale non possediamo mezzi sicuri, almeno per ciò che riguarda i tessuti animali (1). La importante questione dei rapporti esistenti fra la composizione chimica del nucleo e quella del citoplasma resta pertanto non risolta, ed occorreranno forse mezzi più delicati di quelli che ora possediamo per avvicinarci a risolverla.

Chimica biologica. — *Sulla decomposizione di sali del tellurio per opera dei microrganismi.* Nota del prof. B. Gosio, presentata dal Socio E. Paternò.

Ad ulteriore sviluppo degli studî sulla biologia degli arsenio-miceti, oltre che della loro azione sui composti d'arsenico, sto da qualche tempo occupandomi di un'altra azione, che oggidì ha acquistato una certa importanza per gli eventuali equivoci, a cui può dar luogo: voglio alludere al loro modo di comportarsi, quando vivono a contatto di sali di tellurio. In reltà gli equivoci sono del tutto effimeri, poichè fra arsenio-reazione e tellurio-reazione esistono differenze profonde e di prontissimo riconoscimento: così il numero dei composti trasformabili dagli ifomiceti mi risulta, pel tellurio, anche più ristretto di quanto da altri venne affermato (2); per contro, dato un sale trasformabile, numerossime sono le specie ifomicetiche atte alla trasformazione: esperimentando su una copiosa raccolta di specie e varietà, non ebbi finora alcuna eccezione: il fenomeno si estrinseca bensì con diversa intensità; ma, in sostanza è sempre apprezzabile, e sarei inclinato a ritenerlo come un carattere normale della vita ifomicetica. Per l'arsenico, invece, si osservano precisamente i fatti opposti: tutti i corpi arsenicali sono trasformabili e molto ristretto è poi il numero degli ifomiceti che si rivelano a questo compito idonei. Inoltre, parmi interessante la constatazione da me fatta, che l'arsenio-reazione ifomicetica è un fenomeno relativamente lento e tardo a manifestarsi anche ai sensi: pur ammesse le più favorevoli condizioni dei preparati, è difficile apprezzarla prima di 15-20 minuti: in molti casi bisogna attendere anche un'ora e più. La tellurio-reazione, invece, si svolge prontissima: in condizioni favorevoli si rende manifesta all'olfatto già in due o tre minuti (3).

(1) Cfr. Heine, Zeit. f. Physiol. Ch. Bd. 22 s. 132.

(2) Per quanto si è già fatto al riguardo, vedansi le pubblicazioni di Maassen (Arb. Kais. Ges., Berlin, vol. 18); Maggiora (Boll. Soc. med., Modena, anno V, fasc. 1°); Segale (Arch. scienze med., vol. XXVII, n. 15).

(3) Circa la metodica della reazione, rimando al mio lavoro: *Ricerche ulteriori sulla biologia e chimismo delle arseniomuffe*, Policl., vol. VII, 1900.

Ma sulla totalità delle esperienze fatte allo speciale riguardo della differenza fra arsenio-bio-reazione e tellurio-bio-reazione, mi riservo di diffondermi in seguito. Per intanto credo utile richiamare, a parte, l'interesse circa un fenomeno, che si rivela quando la vita microorganica si compie a contatto di taluni componenti di tellurio. Oltre alla classe degli ifomiceti, considero qui anche gli altri microrganismi, sovratutto gli schizomiceti, che sperimentai in grande numero. Il fenomeno, che si rivela all'occhio, spesso già in poche ore, è un annerimento del substrato contenente i germi. A seconda della qualità dei germi, del grado di vitalità (culture più o meno giovani) e anche della quantità di tellurio che (sempre nei limiti di tolleranza) si espone al loro lavorio, si può avere un colore brunastro o bruno verdastro, oppure nero deciso; talora spicca anche una tinta violacea diffusa od a chiazze. Nei substrati liquidi può aversi o la tinta uniforme, od anche una copiosa precipitazione in nero: in quelli solidi ogni punto di sviluppo dei germi diventa sede di una decomposizione del sale di tellurio e spesso ciò avviene con tanta esattezza e regolarità da poter assicurare che ogni area annerita corrisponde a zoogloee di germi, che hanno vissuto.

Detto comportamento, di fronte all'energia batterica, è comune a tutti i composti di tellurio?

Qui io mi limito per ora a considerare i telluriti alcalini ed in ispecial modo il tellurito potassico: Te O^3K^2 (soluz. alcalina per KOH). Questo è il sale che mi servì nelle mie ricerche. Non intendo neanche estendere la nozione a tutti i telluriti, perchè non ebbi la possibilità di sperimentarli tutti: intendo però fare esclusione o per lo meno molte riserve sui sali in cui il tellurio funziona come base. questi composti mi risultano resistere molto di più all'azione dei germi e, come non sono trasformabili in gas dagli ifomiceti, ciò che dimostrerò in altra occasione, così e dagli ifomiceti e dagli altri microorganismi da me finora sperimentati non vengono fatti segno alla decomposizione oggetto della presente Nota, mentre nel modo più deciso essa può verificarsi pel tellurito di potassio. A ciò affermare mi servono di fondamento le ripetute prove fatte col nitrato basico di tellurio ed ho motivo per ritenere, che anche altri sali basici si comportino come il nitrato. Se qualche eccezione si può fare, ciò può dipendere dalla difficoltà pratica di mantenere integra la molecola del sale basico; ed avvenendo ulteriori trasformazioni chimiche, ognuno comprende, che cambiano i termini e quindi anche i criteri di giudizio.

Sono i germi tutti capaci della reazione sui telluriti, di cui qui è parola?

Le prime indagini da me compiute riflettono il caso degli ifomiceti poichè, come già dissi, l'osservazione ha origine dallo studio dell'azione degli

ifomiceti sul tellurio in confronto dell'arsenico. Una raccolta di 183 esemplari (fra specie e varietà di muffe) si comportò sostanzialmente nello stesso modo col tellurito potassico, sia che la soluzione di questo sale si addizionasse in dose tollerabile al terreno nutritivo, prima dell'innesto, o, meglio, se una goccia del liquido venisse posta sul micelio già in progresso di sviluppo. Gli ifi, sovratutto nel loro punto di contatto col tellurito, si tingono in bruno nerastro o violaceo e la colorazione è persistente ed in piccola parte apparisce anche diffusibile nel substrato nutrizio. Per le specie, che si pigmentano sporificando, il colore si modifica a seconda dei varî colori dei conidi (1).

Le prove fatte cogli schizomiceti ebbero, in complesso, un esito analogo. I batterî, su cui, finora, ebbi campo di sperimentare sono questi:

B. del tifo; b. coli (4 provenienze); b. dissenterico (3 provenienze); b. difterico; b. pseudo-difterico (2 provenienze); b. della tubercolosi umana, bovina ed aviaria; b. della peste bubbonica; b. della morva; b. del colera asiatico; b. del carbonchio ematico; b. suisepticus; b. del colera dei polli; b. dell'edema maligno; b. del carbonchio sintomatico; b. piocianeo; b. sincianeo; b. prodigioso; b. cuboniano; b. aquatilis; b. luteus; b. fluorescens liquefaciens; b. mesentericus vulgatus; b. megaterio; b. fosforescente (2 varietà); b. violaceo; b. dell'ac. lattico; sarcina lutea; sarcina alba; sarcina aurantiaca; staffilococco piog. aureo, staffilococco piog. albo, staffilococco piog. cereo; streptococco dell'adenite equina; uno streptococco isolato dalle feci di un cavallo; un blastomiceta isolato dall'aria; saccaromices elipsoideus; streptotrix Eppinger; strept. odorifera; bothritis Bassiana ed Achorion Schoenlenii. Devo aggiungere 38 specie batteriche isolate da acque potabili e non ancora ben identificate ed altre 20 specie isolate da varî campioni di seme bachi, del cui studio batteriologico si sta occupando il dott. Giorgi di questo laboratorio.

Orbene, tranne rare eccezioni, su cui cade anche il dubbio, che non sia stato possibile lo sviluppo del germe per un'eccessiva sensibilità verso il composto telluroso, il quale agisce come un antisettico (saccaromices elips., b. del carbonchio sintomatico ed Achorion) tutte le culture dei suddetti microrganismi, in presenza del tellurito potassico, diedero luogo ad un annerimento più o meno pronunciato, che, in molti casi, a poco a poco si convertì (terreni liquidi) in un vero deposito nerastro in fondo ai tubi.

Le prove furono fatte con una soluzione alcalina di tellurito potassico all'1,5 %: di essa aggiungevo una o due goccie a tubi di brodo in cui coltivavo i vari germi, ovvero distendevo la medesima dose in tubi d'agar a striscio. In parecchi casi aggiungevo il sale di tellurio al terreno culturale, prima dell'innesto; in altri casi attendevo lo sviluppo del germe e quindi

(1) A questa categoria di reazioni cromatiche deve appartenere quella recentemente accennata da Segale (v. loc. cit.) facendo cadere alcune goccie di soluz. tellurica sul penic. brev. vegetante rigogliosamente.

vi mettevo a contatto la sostanza. Agendo in questa seconda maniera, si ha molto maggior probabilità di render deciso e sollecito il fenomeno; laddove, nell'altra maniera, si pone troppo a cimento la varia sensibilità dei germi di fronte al tellurito. Succede infatti per taluni microrganismi (ad es. pel vibrione colerico, b. del carbonchio e colera dei polli) che, a cultura sviluppata e giovane, la trasformazione del tellurito è evidentissima e pronta, mentre a coltura incipiente essa è tarda ed incerta. Questa osservazione porta alla conseguenza, che di varî micoorganismi cimentati colla stessa quantità sia pur tollerabile, di tellurito potassico, alcuni spiegano un'energia maggiore con reazione colorata sollecita ed evidentissima, altri invece ritardano e sono meno decisi in questo comportamento. Ad ogni modo le numerose prove autorizzano a ritenere che si tratti di una legge biologica, che soffre poche eccezioni, le quali eccezioni sono poi anche da sottoporre ad un'ulteriore critica sperimentale.

Come già osservai per gli ifomiceti, così anche per gli altri microorganismi, la sede principale, in cui si rileva il fenomeno colorato, è il corpo cellulare stesso. Abbiasi un batterio immobile, ad esempio il b. anthracis o il b. della peste bubbonica o uno streptococco piogene: facciasi uno di questi germi sviluppare in brodo e, ciò ottenuto, depongasi la quantità tollerabile di tellurito nella cultura con pipetta affilata e senza scosse: dopo una breve sosta in termostato, è possibile osservare le zooglee batteriche tinte in bruno, mentre gli strati liquidi soprastanti risultano perfettamente limpidi ed incolori. Pei germi mobili, invece, anche dopo deposizione delle zooglee annerite, è dato osservare una tinta uniforme in tutta la massa; ciò può stare in rapporto con corpi batterici in sospensione o con resti di corpi batterici, ad es. di ciglia, che si sono fatti sede della decomposizione tellurica. Non è però escluso, che una piccola parte della sostanza decomposta sia libera nel terreno culturale, fuori della cellula che l'ha prodotta.

* * *

La decomposizione del tellurito di cui qui è parola è da interpretarsi come un fenomeno vitale diretto, ovvero è dessa inerente ad un'energia reattiva di particolari prodotti di ricambio, frutto secondario della vita cellulare stessa?

Per contribuire alla risposta di un tale quesito, ho fatto queste esperienze:

1. Culture abbondandi di b. dissenterico, di b. coli e di b. tifoso vennero sterilizzate con un soggiorno di parecchie ore a 60°, cioè ad una temperatura che concilia la soppressione della vita batterica insieme ad un sufficiente rispetto del protoplasma e dei suoi prodotti. Quando ebbi la sicurezza che un trapianto delle varie patine si manteneva sterile, umettai le patine

stesse con la soluzione di tellurito e le feci poi rimanere in termostato 48 ore. Non ebbi alcuna reazione colorata, che potesse menomamente paragonarsi a quanto succedeva in tutti i controlli su batterî viventi. Analoga esperienza fatta con culture di mucor mucedo e di penicillium glaucum approdò agli stessi risultati.

2. Ottenuto copioso sviluppo dei suddetti germi in brodo, vi aggiunsi il tellurito in dose da poter contare su un'azione antisettica decisa. Non constatai in maniera apprezzabile il fenomeno, che qui c'interessa.

3. Analoghe culture ricevettero dosi tollerabilissime di arsenito potassico, dopo aver ricevuto però altre dosi forti di un'altro antisettico.

Ebbi lo stesso risultato come sopra.

4. Finalmente, culture di tifo filtrate attraverso la porcellana si mostrarono inattive con traccie di tellurito potassico.

Di fronte a queste osservazioni dovrei dunque conchiudere che la decomposizione del tellurito è qui indizio della vita batterica diretta: forse potrà essere anche più esatto il dire, dello sviluppo batterico. In tutti i modi laddove non c'è vita, si constata in proposito anche l'inerzia. Naturalmente qui prescindo dai fenomeni, quali potrebbero riprodursi con processi chimici.

* * *

Quale può essere la natura della bioreazione qui ricordata?

Con ogni probabilità trattasi di un processo di riduzione. Forse potrà andarsi fino all'eliminazione del tellurio metallico. Forse sono anche diversi i composti, che possono formarsi a seconda dei varî microorganismi, su cui cade la prova: avuto riguardo al fatto, che, in certi casi, si manifestano tinte violacee o violaceo-nerastre, torna ovvio pensare alla formazione di tellururi o di politellururi. Ad ogni modo, l'ultima parola in proposito potrà dirsi soltanto allorchè sia ben definita la composizione chimica dei varî precipitati, che si ottengono in seno alle colture. All'uopo io attendo ora alla preparazione del materiale di studio e ricorrerò anche all'aiuto del chimico analista.

* * *

Giova infine domandarci, se le osservazioni, che formano oggetto della presente Nota, possono avere qualche importanza pratica.

Un'applicazione probabile può essere quella inerente ad un mezzo per renderci conto della vita batterica o di uno sviluppo batterico in genere. Al proposito si sperava di avere un sussidio nell'indaco azzurro. Ma da esperienze fatte in questo laboratorio, le speranze andarono svanite. Questa reazione sui telluriti si presenta invece feconda di maggiori garanzie. Egli è certo, che si

può giungere ad una tale diluzione del tellurito, da non temere alcuna conseguenza, per una traccia del sale, che avesse ad introdursi nel nostro corpo; ed intanto su questa traccia si può contare come su di una spia d'un inquinamento, che abbia potuto aver luogo. V'ha un infinità di materiali che ci preme di mantenere rigorosamente sterili o che, in certi casi, è doveroso lo scartare dall'uso ove sterili non si siano mantenuti. Senza ricordare gl'infiniti casi di sostanze alimentari liquide, di cui ci interessa la conservazione, basta l'esempio di taluni medicinali e, prima di tutti, quello dei sieri terapeutici. Si sa che per quante cautele si vogliano imporre, il controllo di purezza non può che dare una garanzia molto relativa. Di più, dopo un certo periodo, è difficile, che una boccetta di siero, per quanto sia bene confezionata, vada esente da un certo intorbidamento. Ed interessa al sommo il conoscere, se l'opalescenza è un fatto per così dire normale e trascurabile, o non piuttosto frutto della vita di microorganismi. In tal caso una traccia di tellurito, che sia stata aggiunta può togliere ogni dubbio, in base ai fenomeni di cui vedemmo capace questo sale in presenza di batterî viventi. Al riguardo ho fatto 50 prove su campioni di siero, a cui aggiunsi tracce di altrettanti campioni di pulviscolo raccolto in diversi punti del laboratorio. Nel corso di pochi giorni tutte le boccette inquinate rivelarono l'annerimento caratteristico (1). D'altra parte l'aggiunta di traccie di tellurito potassico al siero non produce per sè stessa un tale fenomeno.

Un altro campo d'applicazione sarebbe quello della diagnosi differenziale fra le diverse specie batteriche e ciò per la relativa diversa sensibilità dei germi ai telluriti e diversa attitudine a trasformarli.

Io spero pertanto, che queste osservazioni abbiano anche un frutto pratico. L'ulteriore critica sperimentale dirà, se questa speranza è stabilmente fondata ed a quali condizioni.

(1) La massima decomposizione dei telluriti si ottiene per lo sviluppo di cocchi piogeni. E ciò parmi sia di pratico interesse, tanto per la notevole diffusione che hanno questi germi, quanto perchè essi rappresentano il pericolo più ovvio d'inquinazione dei sieri terapeutici.