

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXIV.

1917

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXVI.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1917

Riassumendo: risulta per ora da queste esperienze:

1) che il liquido di Ringer originale si presta alla sopravvivenza dei tessuti (vaso pulsante) del B. mori allo stato larvale:

2) che meglio appare prestarsi se non contenga bicarbonato sodico;

3) che l'aggiunta ad esso di acidi è pernicioso e che di essi solo tracce minime vengono sopportate;

4) che dannosa è l'aggiunta di sali di manganese e rame nei quali sieno presenti gli ioni dei rispettivi metalli;

5) che indifferente è l'azione di urea o di glicosio;

6) che il vaso pulsante funziona anche sottratto all'azione del sistema nervoso centrale;

7) che i suoi singoli segmenti sono capaci di funzionare indipendentemente.

Da queste conclusioni nascono due problemi di fondamentale interesse. Il primo: quello della spiegazione del singolare fenomeno per il quale i tessuti del B. mori — e probabilmente sarà lo stesso per gli altri insetti — mentre prosperano *in vivo* nell'emolinfa acidissima muoiono *in vitro* per tracce minime di acidi aggiunti alle soluzioni fisiologiche; il secondo: quello di stabilire la presenza o meno di elementi nervosi nella parete del vaso pulsante.

Appare infine sempre più meritevole di studio la formazione e la presenza di urea nei tessuti liquidi del baco, urea che dalle ricerche eseguite finora non sembra esistere nei prodotti di escrezione.

Batteriologia. — *Sull'attività biochimica dei batteri agglutinati.* Nota del dott. AMILCARE ZIRONI ⁽¹⁾, presentata dal Corrispondente G. GALEOTTI ⁽²⁾.

Non vi ha dubbio che i microrganismi in genere si sviluppino benissimo in un mezzo di coltura liquido, contenente un siero specifico capace di agglutarli. Mano a mano che essi si riproducono, vengono agglutinati in fiocchi, che cadono al fondo, mentre il terreno di coltura rimane limpido. Il Bandi (che ha utilizzato questo fenomeno di *agglutinazione allo stato nascente*) crede che anzi, in queste condizioni, la moltiplicazione dei batteri sia maggiore, quasi per una difesa della specie batterica contro l'anticorpo.

Non si sa però, se i batteri, che crescono agglutinati, conservino immutate le loro attività biochimiche, e su questo argomento ho fatto le seguenti ricerche.

⁽¹⁾ Dal Laboratorio batteriologico di Muscoli.

⁽²⁾ Pervenuta all'Accademia il 23 giugno 1917.

Ho sperimentato soprattutto col bacillo paratifico B, ed anche col vibrione del colera.

Delle loro reazioni chimiche ho studiato:

- A) la produzione di acidi;
- B) la produzione di CO₂;
- C) la riduzione del bleu di metilene.

A) — *Produzione di acidi.*

Si preparano tubi contenenti esattamente 10 cc. di brodo glucosato (1%) e nella metà di essi si aggiunge siero agglutinante per il paratifo B, fino alla diluizione voluta. Negli altri tubi, che restano per controllo, si aggiunge (affinchè tutte le condizioni siano identiche) siero non agglutinante. Si innestano tutti i tubi, in modo identico, col bacillo paratifico B e poi si tengono nel termostato per vari periodi di tempo, come nella tabella è indicato; quindi si titola l'acidità delle intiere colture con soluzione n/10 di KOH e usando la fenoltaleina come indicatore.

Raccoglio nella tabella seguente i dati di questi esperimenti:

Ore di permanenza nel termostato	Diluizione del siero (1) nella coltura	Cm ³ di KOH adoperati per neutralizzare ciascuna coltura					
3	1/100	b. agglutinati	0.14,	0.14,	0.18,	0.14,	0.14
		b. non agglutinati (controlli)	0.10,	0.14,	0.14,	0.14,	0.14
5	1/600	b. agglutinati	0.40,	0.50,	0.50,	0.50,	0.50
		b. non agglutinati	0.60,	0.50,	0.50,	0.50,	0.40
10	1/600	b. agglutinati	2.08,	2.44,	2.28,	2.38,	2.34
		b. non agglutinati	2.04,	2.18,	2.34,	2.36,	2.04
12	1/600	b. agglutinati	2.56,	2.54,	2.70,	2.80,	2.76
		b. non agglutinati	2.60,	2.60,	2.56,	2.50,	2.50
12	1/600	b. agglutinati	2.15,	1.95,	2.10,	2.30	
		b. non agglutinati	2.00,	2.00,	2.20,	2.35	
15	1/100	b. agglutinati	2.28,	2.08,	2.24,	1.96,	1.98
		b. non agglutinati	2.38,	2.30,	2.36,	2.40,	1.40
24	1/300	b. agglutinati			4.94,	4.96,	5.06
		b. non agglutinati				5.20,	5.06
24	1/600	b. agglutinati				5.08,	5.06
		b. non agglutinati					4.98

(1) Il siero è attivo a 1/1000.

Dalle cifre sovra esposte risulta chiaramente, che non vi è differenza nella produzione di acidi fra le colture con bacilli agglutinati e le colture con bacilli non agglutinati.

Lo stesso risultato si ebbe anche in altre prove, che per brevità non riporto, nelle quali fu aumentata la permanenza delle colture in termostato, fino a 30 e a 48 ore.

Altri esperimenti ancora furono fatti in egual modo, con i vibrioni del colera, coltivati in acqua peptonata e addizionata di glucosio, o di maltosio, o di amido solubile.

Al solito, in alcune provette, si aggiungeva una piccola quantità di siero agglutinante ad alto potere; in altre, per controllo, si aggiungeva la stessa quantità di siero inattivo. Riporto i dati di quattro di questi esperimenti, fatti con 25 cmc. di terreno di coltura glucosato:

Oro di permanenza in termostato	Diluizione del siero (1) nella coltura	Cm ^s di KOH <i>n</i> /10 adoperati per neutralizzare ciascuna coltura
8	1/1500	b. agglutinati 2.00
		b. non agglutinati (controlli) 2.00
8	1/3000	b. agglutinati 1.80
		b. non agglutinati 2.16
24	1/1500	b. agglutinati 4.00
		b. non agglutinati 4.80
24	1/3000	b. agglutinati 4.40
		b. non agglutinati 5.50

E qui debbo accennare, incidentalmente, ad un fatto non privo di interesse, che ho osservato in questi esperimenti sul colera, e cioè che la produzione di acidi, restando eguali tutte le altre condizioni, è alquanto diversa, a seconda dell'altezza dello strato in cui il terreno liquido si trova, e precisamente è maggiore se il liquido è in più alto strato. Con tutta probabilità questo fatto dipende dalla quantità di ossigeno, che può entrare nel terreno di coltura, e si può avanzare l'ipotesi, che il vibrione del colera produca quantità maggiori di acidi, quando scarseggia l'ossigeno.

B) — *Produzione di CO₂.*

Per questi esperimenti mi son servito di un apparecchio, che credo opportuno descrivere, perchè può essere utile anche per altre ricerche.

(1) Il siero è attivo a 1/6000.

Si tira alla lampada il fondo di una grossa e corta provetta *A*, nella forma disegnata nella fig. 1. In questa provetta capovolta si introduce un piccolo tubo di coltura *B*, contenente circa 10 cc. di brodo glucosato e di già insemenzato. Si chiude la bocca della provetta con un buon tappo di sughero o di gomma *D*, attraversato da un tubo di vetro *EF*, piegato a branche disuguali.

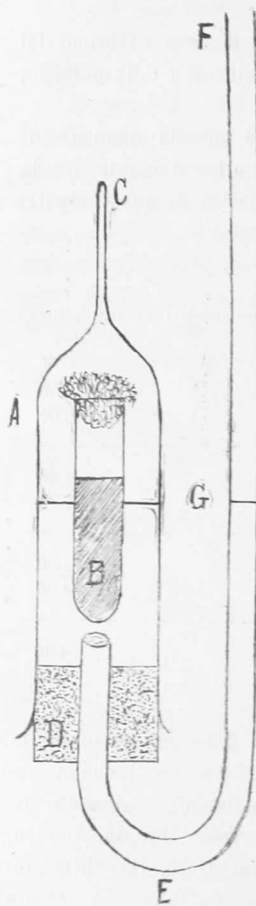


FIG. 1.

Così ho fatto in questi miei esperimenti: in un apparecchio collocavo una coltura di bacillo paratifico *B* in brodo glucosato, addizionata di siero agglutinante nelle proporzioni già scritte, nell'altro un'identica coltura, addizionata di un siero inattivo.

Ho seguito gli spostamenti dell'olio nei tubi di ambedue gli apparecchi, per molte ore di seguito, alla temperatura di 37° e non ho trovato differenze apprezzabili nell'uno e nell'altro caso.

Per l'apertura *F* di questo tubo si versa olio di vaselina, finchè raggiunga il livello *G*. Intanto il tubo capillare *C* deve essere aperto, ma, introdotta la quantità necessaria di olio, si chiude questo tubo alla lampada. Si comprende facilmente che lo sviluppo di CO_2 dalla coltura fa innalzare l'olio nel tubo *EF*. Misurando su di una scala, attaccata a questo tubo, tali innalzamenti, si può determinare la produzione del gas.

Si intende bene che tutto l'apparecchio deve restare immerso in un bagno a temperatura costante, adatta allo sviluppo del microrganismo studiato. Solo l'apertura *F* deve emergere.

Se si vuol determinare con ogni esattezza la quantità di CO_2 sviluppata, si deve calibrare con cura il tubo *EF*, misurare la quantità d'aria iniziale contenuta nella provetta al di sopra del livello *G*, e fare le opportune correzioni, tenendo conto delle variazioni di pressione determinate dall'innalzamento dell'olio nel tubo *F* e degli eventuali cambiamenti barometrici.

Ma per ricerche comparative non vi è bisogno di tutto ciò. Se si hanno due apparecchi perfettamente eguali, basta tener conto dell'innalzamento dell'olio nell'uno e nell'altro e confrontare i valori ottenuti.

Cosicchè posso affermare, che la produzione di CO_2 , per opera di bacilli paratifici B, è eguale, tanto se i bacilli crescono agglutinati, quanto se non ha luogo l'agglutinazione.

C) — *Riduzione del bleu di metilene.*

La riduzione del bleu di metilene (scoloramento) è, in certe condizioni, considerata come una reazione prettamente biologica. Per i miei esperimenti ho proceduto così: in piccoli tubi da saggio versavo una certa quantità di brodo colorato col bleu di metilene, e poi in alcuni aggiungevo ancora, nelle solite proporzioni, siero agglutinante per il paratifico B; negli altri, per controllo, mettevo eguali quantità di siero inattivo. Tutti i tubi erano identicamente insemenzati col b. paratifico B e sul brodo veniva stratificato olio di paraffina sterile per lo spessore di 1 cm. Collocavo quindi queste colture nel termostato, esaminando di ora in ora le modificazioni del colore. Risultò, che tanto le provette, in cui si sviluppavano i bacilli agglutinati, quanto le provette di controllo, si decoloravano con eguale rapidità. Anche questa reazione chimica non è dunque influenzata dalla agglutinazione dei batteri che la producono.

CONCLUSIONE.

Da questi esperimenti risulta, che lo stato di agglutinazione dei batteri non modifica le loro proprietà biochimiche generali.

Inoltre, poichè le quantità dei prodotti delle reazioni chimiche dei batteri, sono eguali tanto nelle colture agglutinate quanto in quelle non agglutinate, resta confermato che l'agglutinazione non modifica neppure l'attività moltiplicatrice dei batteri stessi.

E. M.
