MiscB74

CLINICA DELLE MALATTIE TROPICALI E SUBTROPICALI DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA
Direttore: Sen. Prof. ALDO CASTELLANI di CHISIMAIO

BIAGIO URSO

Ricerche ed osservazioni sulla biologia del B. Ceylonense B

Estratto dall' « Archivio Italiano di Scienze Mediche Coloniali e di Parassitol. »
Vol. XXIV (IX della Nuova Serie) - 1943-XXI

« EDIZIONI UNIVERSITARIE »
VIA DEL QUIRINALE, 22 - ROMA

Clinica delle Malattie Tropicali e Subtropicali della R. Università di Roma
Direttore: Sen. Prof. ALDO CASTELLANI di CHISIMAIO

Ricerche ed osservazioni sulla biologia del B. Ceylonense B

BIAGIO URSO – Assistente Ordinario

Siamo stati indotti ad intraprendere uno studio completo sulla biologia del B. ceylonense B, in considerazione che l'ALESSANDRINI, in un suo recente lavoro, riferisce per quanto riguarda i caratteri fondamentali fermentativi dei metadissenterici che, mentre il B. ceylonense A ed il B. madampense rispondono esattamente a quanto nei trattati è riportato, il B. ceylonense B si comporterebbe in modo diverso per le sue proprietà gassogene nella sorbite e qualche volta nel lattosio e nella dulcite ed appunto perciò dovrebbe piuttosto interpretarsi come l'ultimo anello della catena che unisce i dissenterici ai coli bacilli atipici.

Com'è noto il CASTELLANI negli anni che vanno dal 1905 al 1911 da casi di colite cronica e di coliti dissenteriformi ha isolato un gruppo di batteri a cui diede il nome di B. metadissenterici, i quali, pur avendo dei caratteri in comune con i B. dissenterici, se ne differenziano da essi per alcune particolari caratteristiche. La prima descrizione dei batteri fu fatta a Ceylon nel 1907 ed il CASTELLANI rese subito nota la principale proprietà per tale differenzazione che è quella riguardante l'azione sul latte e sul lattoosi. I germi appartenenti al gruppo dei B. dissenterici non coagulano il latte nè acidificano il lattosio, mentre i germi appartenenti al gruppo dei metadissenterici acidificano il lattosio e coagulano il latte.

Nella classificazione dei germi intestinali fatta da CASTELLANI e CHALMERS, questi due gruppi sono stati posti nella tribù delle *Ebertheae*, sottotribù *Erberthanaerogeneae* ed è stato dato il nome di *Shighella* al primo gruppo e di *Castellanus* al secondo gruppo, nome proposto dal CERRUTI in onore dell'Autore che per primo li ha descritti.

Al genere *Shighella* appartengono il germe della dissenteria vera o di Shiga Kruse ed i germi della paradissenteria (FLEXNER, HISS-RUSSEL, STRONG, ecc.) al secondo gruppo appartengono numerosi batteri isolati per la maggior parte dal CASTELLANI, tra i quali il B. ceylonense A, il B. ceylonense

B, ed il B. madampense. Tali germi, come il CASTELLANI stesso a suo tempo fece notare, danno luogo a delle sindromi morbose varie, talvolta acute, ma per lo più a decorso cronico.

La sindrome morbosa che essi determinano nella forma acuta può evolvere con sintomatologia intestinale simile a quella di una vera e propria dissenteria con diarrea ed emissione di feci contenenti muco-pus e sangue e che si accompagna a febbre ed a vomito. Tali periodi acuti possono essere alternati a periodi di remissione con malessere generale e tendenza alla stipsi, alle volte in alcune forme cliniche manca del tutto l'episodio dissenterico acuto e la forma morbosa assume fin dall'inizio un andamento cronico.

* * *

Le ricerche sulla biologia del B. ceylonense B sono state da noi eseguite adoperando tre esemplari dello stesso germe:

1) B. metadysenteriae ceylonense B (Londra).
2) B. ceylonense B (Clin. Trop. Roma).
3) B. ceylonense B (Ist. Igiene Roma).

CARATTERI MORFOLOGICI, CULTURALI E TINTORIALI.

Il B. ceylonense B osservato a fresco, proveniente da una cultura di 24 ore in terreno liquido (brodo semplice o acqua peptonata) si presenta sotto forma di bastoncini isolati, da 2 a 5 micron, piuttosto tozzi estremità arrotondate, immobili.

Nei preparati colorati con i comuni colori di anilina, il germe ha presentato identici caratteri morfologici e con le opportune colorazioni non siamo riusciti a mettere in evidenza la presenza di ciglia o di capsula, è gram negativo, non alcool nè acido resistente. Il B. ceylonense B si è sviluppato bene in brodo semplice, mostrando dopo 24 ore un intorbidamento omogeneo; dopo 48 ore si è notato sedimentazione al fondo della provetta con rischiaramento del mezzo. Anche in acqua peptonata all'1 % si è sviluppato abbastanza bene, come pure in bile di bue.

In agar semplice dopo 24 ore dallo insemenzamento si ha la formazione di colonie biancastre, larghe a margini frastagliati e di aspetto lattescente.

Abbondante sviluppo si è ottenuto in agar sangue di coniglio o di uomo; la patina che si è formata era biancastra lucida, di aspetto quasi untuoso.

Rigoglioso sviluppo si è ottenuto in agar siero ed in agar ascite.

In siero di cavallo si è sviluppato dando una patina biancastra, lucida la quale non ha rammollito il mezzo culturale. Si è sviluppato abbastanza bene nella gelatina senza fluidificarla. In terreno di Mac Conkey si è avuto lo sviluppo di colonie trasparenti che nelle prime 24 ore si sono presentate biancastre, ma che successivamente hanno assunto un colorito rosa carico.

In terreno di Drigalski lo sviluppo ottenuto è stato pure rigoglioso, le colonie da principio bluastre sono divenute rosse dopo tre giorni. In terreno di Endo sin dalle prime 24 ore le colonie che si sono sviluppate hanno assunto un colorito roseo per passare successivamente al rosa carico.

Il B. ceylonense B si è dimostrato aerobio facoltativo, in terreni in anaerobiosi come per infissione in agar, in brodo sotto olio di paraffina, in terreno di Tarozzi Noguchi si è sviluppato abbastanza bene sin dalle prime 24 ore.

Nei terreni liquidi di cui sopra ha dato intorbidamento omogeneo del mezzo culturale, mentre in agar per infissione si è sviluppato assialmente senza rompere il terreno di cultura.

L'*optimum* di temperatura per lo sviluppo è stato di 37° mentre è da notare che la possibilità di sviluppo varia entro limiti abbastanza ampi.

PROPRIETÀ BIOCHIMICHE.

Abbiamo studiato la produzione di indolo, il comportamento del germe nel latte e la fermentazione degli idrati di carbonio.

Indolo. — Abbiamo adoperato delle culture del germe in acqua peptonata all'1 %, ed in 5ª giornata di sviluppo abbiamo sottoposto le culture alla reazione di Legal Weil. Abbiamo aggiunto cioè 5 gocce di una soluzione di nitroprussiato di sodio al 5 % più 5 gocce di soluzione di idrato sodico al 30 % e 5 gocce di acido acetico.

Abbiamo ottenuto una colorazione verde azzurro, cioè : abbondante produzione di indolo.

Latte. — Il B. ceylonense B ha coagulato il latte dopo 9 giorni.

Azione sugli idrati di carbonio.

Gli idrati di carbonio adoperati per questa prova sono stati i seguenti: glucosio, lattosio, mannite, maltosio, saccarosio, levulosio, dulcite, galattosio, glicerina, arabinosio, adonite, amigdalina, destrina, isodulcite, inosite, inulina, raffinosio, sorbite, xilosio, eritrite, salicina.

Abbiamo adoperato per la prova la comune acqua peptonata così preparata: peptone purissimo gr. uno, cloruro di sodio gr. 0,50, alla quale abbiamo aggiunto lo zucchero in esame alla dose dell'1 %, aggiungevamo poi l'indicatore (tintura di laccamuffa) circa 10 cc. per cento; la soluzione così preparata veniva distribuita in provette contenenti i tubicini del Durham, nelle quantità di 5 cc. per provetta, e venivano poste in pentola di Koch per tre giorni; dopo la tindalizzazione abbiamo saggiata la sterilità dei terreni prima di insemenzarli. Le provette così seminate venivano poste in termostato a 37° e la lettura è stata eseguita per 40 giorni.

Come si osserva dalla tabella I qui appresso riportata, in nessuno dei tubi si ebbe sviluppo di gas ma soltanto presenza di acidità in alcuni zuccheri.

Dai tre stipiti in esame venivano acidificati il glucosio, lattosio, mannite, maltosio, saccarosio, levulosio, dulcite, galattosio, glicerina, arabinosio, isodulcite, raffinosio, sorbite, xilosio e salicina. Abbiamo eseguito quindi un insemenzamento per infissione in agar solidificato a cilindro, al quale erano stati addizionati i vari zuccheri sopra menzionati nella percentuale dell'1 %; anche in questo caso si è ottenuto sviluppo assialmente senza rottura del terreno di cultura, il che significa che non si è avuto sviluppo di gas.

Non possiamo confermare quindi quanto ha osservato l'Alessandrini e cioè a dire la produzione di gas nella sorbite e qualche volta nel lattosio e nella dulcite.

Vitalità e resistenza.

Il B. ceylonsense B si è mantenuto vivo nei terreni di cultura sino ad un periodo di sei mesi; ha dimostrato una notevole resistenza all'essiccamento; infatti da una cultura in acqua distillata, tenuta ad essiccare in termostato, si è potuto ottenere lo sviluppo dopo 4 giorni dacchè era completamente essiccata.

	Glucosio	Lattosio	Mannite	Maltosio	Saccarosio	Levulosio	Dulcite	Galattosio	Glicerina	A abinosio	Adonite	Amigdalina	Destrina	Isodulcite	Inosite	Inulina	Raffinosio	Sorbite	Xilosio	Eritrite	Salicina	Indolo	Latte
Tabella I.																							
B. metadyssenteriae, Ceylonense B (Londra) .	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	O	O	O	A	O	O	A	A	A	O	A	+	C
B. ceylonense B (Clinica Tropicale) - Roma) .	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	O	O	O	A	O	O	A	A	A	O	A	+	C
B. ceylonense B (Istituto Igiene - Roma) . .	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	O	O	O	A	O	O	A	A	A	O	A	+	C
Tabella II.																							
B. Ceylonense A	A	A	A	A	A	A	O	A	A	A	O	O	O	A	O	O	A	O	O	A	O	O	C
B. ceylonense B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	O	O	O	A	O	O	A	A	A	O	A	+	C
B. madampense	A	A	A	A	A	A	O	A	A	A	O	O	O	A	O	O	A	A	A	O	O	+	C

A = acidificazione. — C = coagulazione. — O = risultato negativo.

Il germe in esame ha resistito al calore fino alla temperatura di 55° per 30 minuti, conservando inalterate le sue proprietà di sviluppo. Ha resistito anche notevolmente alla luce solare, conservando inalterate le sue proprietà fin dopo due ore dalla esposizione diretta ai raggi solari.

RICERCHE SIEROLOGICHE.

Inoculando delle sospensioni batteriche attenuate con il calore a 55° per mezz'ora, a giovani conigli del peso medio di gr. 2500 circa abbiamo ottenuto dei sieri agglutinanti che provati con gli altri germi del gruppo dei metadissenterici quali B. ceylonense A ed il B. madampense non hanno dato agglutinazione.

Le prove di agglutinazione sono state eseguite con la tecnica microscopica comune e con i normali accorgimenti.

CONCLUSIONE

Dai risultati delle nostre ricerche possiamo trarre le seguenti conclusioni:

1) Il B. ceylonense B è un germe che, come tutti i metadissenterici, ha la proprietà di crescere agevolmente su tutti i comuni terreni di cultura, è immobile, ad estremità arrotondate, gram negativo, asporigeno sprovvisto di capsula, non fluidifica la gelatina, e non produce gas nei comuni terreni zuccherati sia liquidi che solidi.

Le prove biologiche lo differenziano nettamente dagli altri metadissenterici come pure si distingue da essi per le proprietà biochimiche sugli zuccheri (Tab. II); si differenzia infatti dal B. ceylonense A perchè produce acidità nella dulcite, sorbite, xilosio, salicina mentre non la produce nella eritrite; dal B. madampense perchè quest'ultimo non produce acidità nella dulcite e nella salicina.

Tali proprietà sono state riscontrate identiche nei tre stipiti da noi studiati, pertanto riteniamo che alcuna variazione si debba apportare alla originale classifica del CASTELLANI.

BIBLIOGRAFIA

ALESSANDRINI A., « Archivio Italiano Sc. Med. Colon. e di Parassitologia », luglio 1940.

CASTELLANI A., « Ceylon Medical Reports », 1906.

CASTELLANI A., « The Journ. of Hyg. », 1907.

CASTELLANI A., « Giorn. Batter. e Immunologia », 1927.

CASTELLANI A., « Journ. Trop. Med. and Hyg. », 1932.

CASTELLANI A., JACONO, « Manuale di Clinica Tropicale ».

CERRUTI G. F., « Atti I Congresso Med. Ig. Coloniale di Torino », 1928.

CERRUTI G. F., « Annuali di Med. Nav. e Coloniale », 1928.

CERRUTI G. F., « Journ. of Trop. Med. and Hyg. », 1930.

JACONO I. e ACQUAVIVA M., « Archivio It. Sc. Med. Colon. e di Parassitologia », novembre 1940.