

DISSOCIAZIONI DEL BACILLO BULGARO

Prof. Vittorio Puntoni

(Ricevuto il 18 giugno 1942 - XX)

Ancorchè sia di comune nozione che il fermento batterico dello Joghurt è il b. bulgaro, sta di fatto che parecchi studiosi dell'argomento isolarono e differenziarono, in questo latte acido, due forme batteriche similcarboniose, ritenute talora come due diverse specie, talaltra come due tipi o varietà di una specie medesima.

Sotto il punto di vista puramente morfologico (esame microscopico) Luerssen e Kühn rilevarono per primi che nello Joghurt esisteva una forma batterica senza granulazioni metacromatiche, per la quale essi mantennero l'appellativo specifico di Cohendi, e cioè *B. bulgaricum* ¹⁾ ed una seconda forma ricca di granulazioni metacromatiche che essi considerarono come specie diversa designandola con la denominazione volgare di « *Körnchenbazillus* », e poi latinizzata in *Bacterium granulosum* da Lehmann e Neumann.

Fra gli altri AA. che differenziarono due forme di batteri lattici nello Joghurt, vanno poi segnalati soprattutto White e Avery ed Orla Jensen.

White e Avery, in un importante lavoro sulla microbiologia dello Joghurt differenziano il b. bulgaro in due tipi, A e B, ai quali assegnano i seguenti caratteri:

	Tipo A	Tipo B
Granulazioni	Assenti	Presenti
Qualità dell'a. lattico prodotto	Inattivo	Levogiro
Quantità di a. lattico prodotta	2,7-3,7%	1,2-1,6%

Orla-Jensen, che ha profondamente studiato la microbiologia del latte, non esita a riconoscere due differenti specie batteriche nell'Joghurt, che designa ambedue con il nome generico di *Thermobacterium*, e con i nomi specifici di *Thb. jugurt* e di *Thb. bulgaricum*. Ad essi assegna i seguenti caratteri differenziali:

	<i>Thb. jugurt</i>	<i>Thb. Bulgaricum</i>
Granulazioni	Assenti	Presenti
Tipo della colonia	A Caput Medusae	finemente granulosa
Quantità di a. lattico prodotta	più di 2,7%	massimo di 1,7%
Qualità dell'a. lattico prodotto	inattivo	levogiro

¹⁾ Cohendi e Michelson adottarono la denominazione di *Bacillus bulgaricus*, cambiata poi da Luerssen e Kühn in *Bacterium bulgaricum*.

Come si vede, il *Thb. jugurt* di Orla-Jensen corrisponde al tipo A di White od Avery, ed il *Thb. bulgaricum* al tipo B.

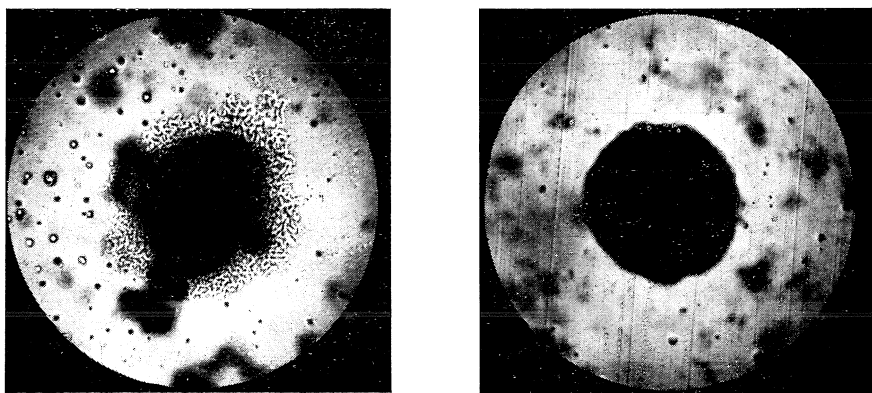
Non vi è invece accordo con le denominazioni di Luerssen e Kühn, perchè il *B. bulgaricum* di questi, e della maggior parte di altri AA., corrisponde (almeno per l'assenza delle granulazioni) al *Thb. jugurt* di Orla-Jensen, ed il *Körnchenbazillus* corrisponde al *Thb. bulgaricum* di Orla-Jensen.

Inoltre Luerssen e Kühn, ammettono che l'a. lattico formato dai batteri lattici sia una miscela di levogiro e destrogiro, con prevalenza però di quest'ultimo, cosicchè i sieri di latte ove hanno coltivato tanto il *B. bulgaricum* quanto il *Körnchenbazillus* deviano la luce a destra col polarizzatore.

Dall'insieme delle suddette ricerche si può intravedere che nello Joghurt esistono effettivamente almeno due forme batteriche con caratteri diversi, ma che questi caratteri sono stati variamente apprezzati dai vari AA., i quali hanno adottato anche denominazioni opposte con il risultato di creare dei confusionismi.

Dall'esame dei lavori degli AA. summenzionati si ricava inoltre l'impressione che le loro ricerche abbiano avuto per oggetto singoli ceppi e che non siano invece il risultato di un largo esame, effettuato sopra una notevole quantità di campioni. Donde il legittimo dubbio che nel campo della batteriologia lattica possa esistere una variabilità maggiore di quanto non sia stato sospettato fino ad ora, e la opportunità di moltiplicare gli studi su questo soggetto.

Avendo ricevuto, per gentile invio del Dott. Benussi di Tirana, un campione di Kos albanese, che è da ritenere un prodotto analogo, se non identico, allo Jughurt bulgaro, ne ho studiato la flora mettendo in evidenza tre forme microbiche, in accordo con quanto ha già pubblicato Castelli in questa Rivista: una forma batterica simil-carbonchiosa, una forma streptococcica ed una forma saccaromicetica.



Leggenda:

Fig. 1 - A sinistra: Colonia di *b. bulgaro* del Kos a tipo Caput Medusae.
A destra: Colonia di *b. bulgaro* del Kos a tipo finemente granuloso.

La forma batterica ha presentato due aspetti, l'uno granuloso, l'altro senza granulazioni. Effettuati isolamenti su piastre di agar al siero di latte e malto, sono cresciute due colonie manifestamente diverse: l'una a costituzione finemente granulosa, l'altra a tipico *Caput Medusae* con bellissime ciocche di filamenti. Trapiantati separatamente in latte, i due tipi di batteri hanno mantenuto il suddetto carattere inalterato anche dopo molti mesi di passaggi.

Caratteri comuni ai due tipi sono: le dimensioni simil-carbonchiose in latte; la Gram-resistenza; l'attività di coagulazione sul latte a 47°50° e la inattività a 22° o meno; l'assenza di sviluppo sul latte biliato al 20 %; l'azione saccarolitica (acidificante) sul lattosio; la mancanza di azione saccarolitica sul maltosio.

Caratteri differenziali dei due tipi sono invece i seguenti:

Tipo con colonia finemente granulosa: si sviluppa su agar per lattobatteri con filamenti tipicamente aggrovigliati a gomitolo; in latte presenta numerose e costanti granulazioni; dopo 5 giorni di coltura in latte scremato neutro ha prodotto un'acidità che espressa in acido lattico è del 1,40 per cento.



Leggenda:

Fig. 2 - A sinistra: Coltura su agar speciale del *b. bulgaro* con colonia a *Caput Medusae*.

A destra: Coltura su agar speciale del *b. bulgaro* con colonia a tipo granuloso.

Tipo con colonia a Caput medusae: si sviluppa su agar per lattobatteri con forme batteriche a catenelle pressochè regolari; in latte non forma granulazioni o le forma scarsissime ed incostanti; dopo 5 giorni di coltura in latte scremato neutro produce un'acidità totale che espressa in a. lattico è del 1,67 %.

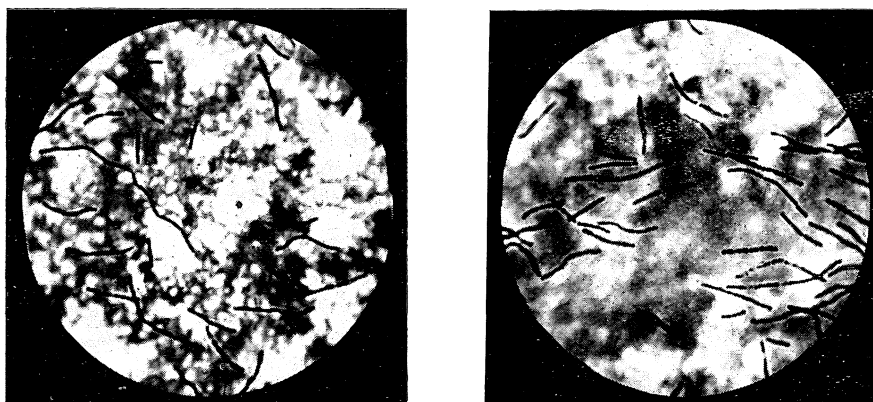
Quanto al tipo dell'a. lattico prodotto, ed esaminato al polarimetro dopo estrazione con etere, esso è risultato per ambedue i tipi, come anche per tre fermenti lattici di collezione classificati come bulgari, inattivo o lievemente destrogiro.

Questa osservazione è in contrasto con una asserzione di Orla-Jensen, secondo la quale i batteri lattici con colonia a *Caput Medusae* formano a. lattico inattivo, mentre con colonia finemente granulosa o liscia, lo formano levigato.

Si osservi inoltre che dei due batteri il più forte produttore di a. lattico è risultato quello con granulazioni ed a colonia finemente granulata, in contrasto con le osservazioni di White ed Avery e di Orla-Jensen che attribuiscono un più forte potere acidogeno al tipo senza granulazioni e con colonia a *Caput Medusae*.

È quindi evidente che nei batteri lattici riportabili al gruppo bulgarico, i caratteri differenziali (granulazioni, tipo di colonia, quantità e qualità dell'a. lattico) possono intrecciarsi fra loro e costituire un insieme di tipi assai diversi, certamente più numerosi dei due finora ammessi.

Ed allora sorge la domanda del significato di tali tipi rispetto alla classificazione. Si deve considerare una sola grande specie, con possibilità di numerose varianti, oppure è legittimo ammettere più specie o varietà con caratteri fissi?



Leggenda:

Fig. 3 - A sinistra: Coltura in latte di *b. bulgaro* con colonia a tipo *Caput Medusae* senza granulazioni. - A destra: Coltura in latte di *b. bulgaro* con colonia a tipo granuloso, con granulazioni.

Dalle presenti ricerche è risultato che la diversità di caratteri nel gruppo del *b. bulgaro* è da attribuire a fenomeni di dissociazione.

Praticando isolamenti su piastre con sospensioni molto diluite e filtrate per carta di colonie a tipo *Caput Medusae* (sospensioni nelle quali mancavano assolutamente raggruppamenti batterici, ed i singoli microbi erano ben separati fra loro), a lato di una quasi totalità di colonie a *Caput Medusae* non è mai mancato lo sviluppo dell'uno o due per cento di colonie a tipo granuloso. Procedendo a nuovo isolamento con sospensioni di queste ultime, si è ottenuto uno sviluppo di circa il 90 % di colonie a *Caput Medusae* e del 10 % circa di colonie granulose. Seguitando gli isolamenti da colonie

granulose, al 4° o 5° passaggio si è ottenuto lo sviluppo di una quasi totalità di colonie granulose, ed anche trapiantando in latte, tale carattere si è mantenuto inalterato per molteplici passaggi.

Inversamente, praticando isolamenti da colonie granulose, si è ottenuto lo sviluppo di rare colonie a *Caput Medusae*, e seguendo i passaggi in serie con queste ultime si è selezionato e mantenuto in modo assai stabile il tipo a *Caput Medusae*.

Si aggiunga che la disociazione, in un senso o nell'altro, è stata accompagnata da quel complesso di caratteri differenziali che sopra abbiamo dato per caratteristici dell'uno e dell'altro tipo microbico.

La conclusione che si trae dalle presenti ricerche è che la presunta duplicità o pluralità dei batteri dello Joghurt, possa essere il risultato di un fenomeno dissociativo.

Inoltre, dalle ricerche dei diversi AA., e dalle presenti, si può desumere che la dissociazione possa avvenire con una diversità notevole nei diversi campioni di Joghurt o di lattici affini.

Per quanto riguarda la questione tassonomica, si ritiene che sia da mantenere la primitiva denominazione di *Bacterium* ¹⁾ *bulgaricum* ponendo in dubbio la legittimità di altre denominazioni ed in particolare quella di *Thb. jugurt*.

RIASSUNTO

L'A. viene alla conclusione che le presunte varie specie o vari tipi di batteri lattici isolati dallo Joghurt possano essere il risultato di semplici dissociazioni, per cui è da mantenere la sola denominazione specifica di « *bulgaricum* » ponendo in dubbio la legittimità delle altre e particolarmente quella di « *jugurt* ».

ZUSAMMENFASSUNG

Verfasser kommt zum Schlusse dass die aus dem Joghurt isolierten vermeintlichen, verschiedenen Arten oder Typen von Milchbakterien, das Resultat einfacher Dissociationen sein können. Demzufolge wäre nur die spezifische Benennung « *bulgaricum* » aufrecht zu halten und die Rechtmässigkeit der anderen Benennungen, und besonders derjenigen von « *jugurt* », in Zweifel zu stellen.

BIBLIOGRAFIA

- Cohendi* - C. R. Soc. de Biol., 1906, vol. 60, pp. 364 e 558.
Luerssen e Kühn - Centr. f. Bakt., II Abt., vol. 20, 1907, p. 241.
White e Avery - Centr. f. Bakt., II Abt., vol. 25, 1909, p. 161.
Orla-Jensen - Centr. f. Bakt., II Abt., vol. 93, 1936, pp. 321-343.
Castelli - Ann. di Microbiologia, vol. I, 1941, p. 3.

¹⁾ o *Lactobacterium*, o *Thermobacterium*, o *Plocamobacterium*, a seconda degli AA.