

# Per l'unificazione dei fermenti lattici sporigeni

Costantino Gorini

(Ricevuto il 5 Novembre 1942-XXI)

Nel 1894 (1) ho isolato da latte sterilizzato del commercio il primo fermento lattico sporigeno, che descrissi sotto il nome di *Bacillus lactis thermophilus* coi seguenti caratteri principali: Bacillo aerobico, a spore terminali, grampositivo, mobile, che non fonde la gelatina, che acidifica e coagula il latte senza digestione nè gasificazione, e si sviluppa fra 37° e 65° C. Per quest'ultima proprietà esso costituiva il secondo esempio di termofilo obbligato, venendo dopo il *B. thermophile* Miquel 1888 sviluppatosi fra 40° e 70° C., il quale però è un fermento putrifico (2).

In seguito numerosi bacilli sporiferi termofili più o meno stretti furono descritti come altrettante specie coi nomi più eteroclitici, mentre il mio veniva pressochè dimenticato. Si tratta però per lo più di bacilli proteolitici, che fondono la gelatina e peptonizzano il latte con reazione alcalina o neutra od anche debolmente acida a mo' di acidoproteoliti; taluno è inattivo sul latte; talaltro non fonde le gelatine ma non coagula il latte anzi lo digerisce.

Due soli bacilli si comportano, come il mio, da saccaroliti e precisamente da fermenti lattici, coagulando il latte con acidificazione senza digestione nè aerogenia; essi sono: il *B. calidolactis* Hussong-Hammer 1928 (3) isolato da latte pastorizzato, e il *B. thermoacidificans* Renco 1942 (4) isolato da sierofermento del formaggio grana. Hussong e Hammer mostrano di ignorare la mia priorità, laddove dichiarano che: « il *B. calidolactis* è differente dai termofili descritti nella letteratura, perchè la combinazione dei suoi caratteri è insolita (*is inusual*) essendo esso un bacillo sporigeno termofilo stretto, che produce nel latte le stesse modificazioni prodotte dai veri fermenti lattici ». Renco invece riconosce la mia priorità, ma a sua volta mostra di ignorare il bacillo Hussong-Hammer.

I tre bacilli sono simili anche per altri caratteri-chiave: aerobiosi, forma plectridica, grampositività. Il bacillo Renco è altresì mobile al pari del mio, mentre il bacillo Hussong-Hammer sarebbe immobile; senonchè, a questo riguardo, debbo rinnovare il monito già espresso nel 1894, che per lo studio della mobilità nei termofili non si addice la comune osservazione a temperatura ambiente, perchè a questa temperatura essi possono rapidamente arrestarsi, come succede appunto del mio, che è termofilo stretto al pari del Hussong-Hammer (che si sviluppa fra 38° e 65° C), mentre il Renco è piuttosto termofilo facoltativo, sviluppandosi fra 20° e 55° C. Aggiungasi che la mobilità va soggetta ad oscillazioni secondo gli stadi di sviluppo, come dimostrai mediante la coltura rampicante (5).

I tre bacilli diversificano nei caratteri culturali, ma per certe particolarità secondarie che possono ascrivarsi, in parte, alla diversa termofilia, in

parte, alla diversa natura e composizione e reazione dei substrati; ciò è ben giustificabile date le diverse epoche e dati i diversi laboratori e i diversi ricercatori. È superfluo ricordare che da cinquant'anni ad oggi l'allestimento dei terreni nutritivi è notevolmente modificato sia nella loro costituzione, sia nella maniera di loro sterilizzazione; lo stesso latte, che un tempo era sterilizzato profondamente fino alla tinta bruna, oggi, dopo le mie osservazioni (6), è sterilizzato per lo più in guisa da mantenere il colorito bianco, e ciò ha influenza sulla rapidità e sulla consistenza del coagulo. E' superfluo ricordare ancora che le patate diversificano a seconda della loro qualità bianca o gialla e secondo la stagione di raccolta; che brodo, gelatina, agar sono, a norma di esigenze locali od economiche, preparati ora con infuso di carne, ora con vari estratti di carne; che il peptone varia sensibilmente a seconda delle marche, come ho dimostrato nel 1893 (7) a proposito della ricerca dell'indolo nelle colture del vibrione colerigeno e ho confermato poi per altre indagini (8). È superfluo ricordare infine che l'uso dei substrati a determinato pH è di recente data. Arroggi che anche le dimensioni delle forme vegetative e sporiali sono variabili col medium, nonchè coll'età e colla fase di evoluzione e di germinazione, talchè, nelle spore, più che alla forma e alla grandezza si dà valore alla loro posizione nel bacillo.

Insomma occorre un'esperienza abbastanza prolungata per giudicare quali caratteristiche morfofisioenzimatiche siano normalmente suscettibili di variazioni; solamente allora riesce agevole di riferire un dato germe isolato al rispettivo tipo più vicino e di comprenderlo sotto il medesimo nome. Le divergenze morfologiche e culturali non essenziali possono fornire criteri attendibili e utilizzabili di comparazione soltanto qualora si impieghino condizioni e substrati standard o, meglio, substrati sintetici fatti con materiali chimicamente ben definiti; altrimenti si rischia di cadere in una travolgente moltiplicazione di specie, di cui Beaver diede classico esempio descrivendo e denominando, nel 1923, ventitre specie nuove (?) di termofili sporigeni mercè « distinzioni basate sopra differenze triviali, nello sviluppo su patate, nell'aerobiosi od anaerobiosi facoltativa, nella riduzione dei nitrati in 18 ore anzichè in 5 giorni. (V. Manuale del Bergey, 5ª ed., 1939).

I tre bacilli si differenziano altresì nella descrizione, che per il Renco e per l'Hussong-Hammer è naturalmente arricchita di indicazioni moderne concernenti l'indolo, la catalasi, la riduzione dei nitrati, il potere fermentativo sui diversi carboidrati, la produzione di acidi secondari accanto all'acido lattico, il quale a sua volta, può essere destrogiro o levogiro o racemico, e via dicendo.

Sono tutti dati interessanti, ma che non autorizzano la creazione di nuove specie, massime quando le specie precedenti sono sufficientemente descritte nei loro caratteri morfo-fisiologici basali, come lo è il *B. lactis thermophilus*. Altrimenti qualunque specie, in qualunque momento, sarebbe destinata ad essere man mano cancellata e sostituita mediante l'accertamento complementare di ulteriori proprietà accessorie, proprietà che possono esistere, fra l'altro, soltanto in alcuni ceppi, quali la fermentazione di certi carboidrati, la riduzione dei nitrati, e a norma anche che trattasi di enzimi abituali o adattivi (9).

Se tutte le cure dedicate alla moltiplicazione delle specie fossero rivolte piuttosto alla loro unificazione, in base all'esame di ceppi abbastanza numerosi ed a convenienti prove di dissociazione (come io ho pure insegnato (10), pur ammettendo eventuali varianti, ne deriverebbe una salutare semplificazione di classificazione e di nomenclatura. Ben fece a questo riguardo Prickett (11) identificando un fermento lattico sporigeno da lui incontrato nel latte in polvere col bacillo Hussong-Hammer, pur aggiungendovi maggiori precisazioni relative all'azione sui nitrati e sugli zuccheri, nonché alcune particolarità morfoculturali secondarie. Mi piace qui citare le recenti ricerche di Burri (12) e di Puntoni (13) che, mediante larghi esami effettuati sopra una notevole quantità di campioni assoggettati a prove di dissociazione, condussero rispettivamente a riunire in una medesima specie lo *Streptococcus casei* collo *Streptococcus thermophilus* e ad unificare i diversi batteri lattici dello Yoghurt. Così si facesse per i bastoncini lattici del formaggio e per quelli dei foraggi insilati, come ho avuto opportunità di reclamare più volte e anche ultimamente (14).

Pertanto, a mio parere, i tre bacilli sopraindicati, per le loro qualità più significative e caratteristiche morfofisioenzimatiche di *fermenti lattici sporigeni* e di *plectridi termofili*, meritano di essere riuniti in un'unica specie, malgrado qualche distinzione che non ne lede l'affinità come non lede la mia priorità, ma serve anzi da prova convincente della grande variabilità delle proprietà microbiche secondo le condizioni ambientali. Onde occorre usare parsimonia eziandio nella coniazione di varianti. Un criterio che potrebbe valere all'uopo sta nel grado di termofilia, imperocchè per mia esperienza, la temperatura di sviluppo è uno dei caratteri meno incostanti della vita microbica. Si possono adunque stabilire due varietà: una varietà termofila obbligata (B. Gorini e B. Hussong-Hammer) e una varietà termofila facoltativa (B. Renco).

Comunque, in conclusione, per il complesso delle ragioni suesposte, tutti i plectridi termofili coagulanti del latte a mo' di fermento lattico, che ho incontrato sia nei latti pastorizzati sia nei foraggi insilati, li ho sempre classificati nell'unico tipo o nell'unica specie *B. lactis thermophilus*, tenendoli distinti dagli altri bacilli sporigeni pure termofili e acidificanti del latte, ma che sono caseolitici (*B. acidificans presamigenes* Gor.) oppure gasificanti vuoi per processi saccaro elastici vuoi per processi proteoclastici (genere *Clostridium*).

## RIASSUNTO

Il *Bacillus lactis thermophilus* Gorini 1894 (primo fermento lattico sporigeno), il *Bacillus calidolactis* Hussong-Hammer 1928 e il *Bacillus thermoacidificans* Renco 1942, in base alle loro proprietà morfofisioenzimatiche principali, possono essere riuniti in una medesima specie caratterizzata da un plectridio termofilo aerobico, grampositivo, che non fonde la gelatina, che acidifica e coagula il latte a mo' di vero fermento lattico, cioè senza digestione nè gasificazione. Le differenze morfo-culturali esistenti nella descrizione dei tre bacilli sono da attribuirsi, in parte, alla variabile composizione, reazione e preparazione dei substrati, secondo le diverse epoche, i diversi laboratori e i di-

versi ricercatori; in parte, all'aggiunta di proprietà accessorie complementari, che sono insufficienti alla creazione di nuove specie, ma bastano appena a far ammettere delle varianti.

#### ZUSAMMENFASSUNG

*B. lactis thermophilus* Gorini 1894 (der erste sporenbildende Milchsäurebacillus), *B. calidolactis* Hussong-Hammer 1928 und *B. thermoacidificans* Renco, 1942, auf Grund ihrer hauptsächlichlichen morphophysicenzymatischen Eigenschaften können in einer einzigen Art vereinigt werden, die durch ein thermophiles aerobes grampositives Plectridium charakterisiert ist, welches die Gelatine nicht verflüssigt und die Milch als echtes Mikhsäureb. ohne Verdauung und ohne Gasbildung säuert und gerinnt.

Die morphologischen und kulturellen Verschiedenheiten unter den Beschreibungen der drei Bacillen sind, zum Teil zu den veränderlichen Zusammensetzung, Reaktion und Herstellung der Nährsubstraten je nach den verschiedenen Epochen, Laboratorien und Forschern; zum Teil, zu der Hinzufügung von nebensächlichen ergänzenden Eigenschaften zuzuschreiben, welche ungenügend sind neue Arten zu schaffen, sondern nur Varietäten anzunehmen gestatten.

#### REFERENZE + -

- (1) *Gorini C.* - Giorn. R. Società It. d'Igiene Milano, gennaio, 1894, 16°, n. 1.
- (2) *Miquel P.* - Ann. Micrographic, Paris, 1888, 1°, 3.
- (3) *Hussong e Hammer.* - Journ. Bact. 1928 15°, 179.
- (4) *Renco P.* - Ann. Microbiol. 1942, 2°, fase 3°.
- (5) *Gorini C.* - Rend. R. Acc. Lincei 1928, 15°, 689. Giorn. Batt. Imm. 1928, 3°, n. 5.
- (6) *Gorini C.* - Rend. R. Acc. Lincei, 1917, 26°, 195 e 223.
- (7) *Gorini C.* - Giorn. R. Soc. It. d'Igiene. Milano, 1893, 15°, n. 5 - Centr. Bakt. 1893, 13°, 790.
- (8) *Gorini C.* - Rend. R. Ist. Lomb. Sc. Lett., 1915, 48", 968.
- (9) *Gorini C.* - Rend. R. Ist. Lomb. Sc. Lett., 1939. 73". 475.
- (10) *Gorini C.* - Giorn. Batt. Imm., 1930, 5°, n. 9. - Rend. R. Acc. Lincei, 1928, 8°, 598.
- (11) *Prickett.* - N. Y. Agr. Exp. Stat. Techn. Bull. 1928, 147°, 481.
- (12) *Burri R. e Elser E.* - Landw. Jahrb. d. Schweiz, 1940, 1.
- (13) *Puntoni V.* - Ann. Microb. 1942, 2°, fasc. 4°.
- (14) *Gorini C.* - Rend. R. Ist., Lomb. Sc. Lett., 1941, 74°, 343.
- (15) *Gorini C.* - Rend. R. Ist. Lomb. Sc. Lett., 1921, 54°, 295. - Rend. R. Acc. Lincei, 1921, 30°, 312.