



ISTITUTO « CARLO FORLANINI »
CLINICA FISIOLÓGICA DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA
DIRETTORE : PROF. E. MORELLI

Dott. GIUSEPPE ZORZOLI

INFLUENZA DEI FILTRATI DI ALCUNI MICETI
SUL BACILLO TUBERCOLARE UMANO E BOVINO

NOTA PRIMA

Estratto da ANNALI DELL'ISTITUTO « CARLO FORLANINI »
Anno IV, N. 3-4, Pag. 208-220



ROMA
TIPOGRAFIA OPERAIA ROMANA
Via Emilio Morosini, 17

1940-XVIII



INFLUENZA DEI FILTRATI DI ALCUNI MICETI
SUL BACILLO TUBERCOLARE UMANO E BOVINO.

NOTA PRIMA.

Dott. GIUSEPPE ZORZOLI

La vita dei vari microrganismi non è legata solo a fattori fisici e chimici proprii dell'ambiente in cui essa si svolge, ma è anche condizionata da elementi d'ordine biologico costituiti dalla presenza di altri microrganismi della stessa specie o di specie diversa, con cui essi vengono a contatto e di cui devono subire le varie conseguenze sia favorevoli che dannose.

Il complesso di tali azioni biologiche reciproche viene compreso nel capitolo vasto noto sotto il nome di *Simbiosi*, di cui noi riconosciamo solo alcuni fatti appariscenti, mentre ci sfugge l'intimo meccanismo e la precisa interpretazione.

Comunque l'osservazione dei fatti ci ha portato ad ammettere ed a distinguere nel grande fenomeno della simbiosi alcune modalità diverse di rapporti biologici che distinguiamo in *Mutualismo*, in *Metabiosi*, in *Antibiosi*, in *Parassitismo*.

Il mutualismo viene caratterizzato in genere dal vantaggio globale che traggono due o più esseri quando vengono a convivere nello stesso ambiente, e si distingue dalla metabiosi in cui lo sviluppo in comune di varie specie giova solo ad alcune di esse, senza però essere nocivo alle rimanenti.

Da queste due modalità di vita in simbiosi, molto simili fra loro, si distingue nettamente l'antibiosi ed il parassitismo. La prima si ha quando i prodotti del ricambio di una specie microbica hanno azione dannosa su di una altra specie tanto di inibire o da impedirne lo sviluppo (REDAELLI), il secondo si ha quando un organismo si giova della associazione di un altro organismo per derivarne il proprio nutrimento.

Queste diverse possibilità trovano esempio in tutta la microbiologia sia della fisiologia che della patologia umana e hanno larga documentazione in lavori sperimentali da vari autori istituiti con prove biologiche e culturali.

Mantenendoci nel campo che a noi più interessa, della biologia del BK, pur senza entrare nell'argomento ancora molto discusso dell'infezione mista nella tubercolosi polmonare, troviamo un discreto numero di lavori rivolti allo studio dell'influenza reciproca tra il BK ed altri germi. Questi studi sono condotti in genere con due diverse modalità: o ricercando l'influenza reciproca di due germi messi a convivere in uno stesso ambiente, oppure studiando le eventuali possibilità modificatrici delle sostanze del ricambio di un germe sulla biologia di un altro.

Tra le prime ricerche va ricordata la constatazione da parte di BONHOFF di un ostacolo alla crescita del BK, esercitato dallo streptococco (1896), e

le osservazioni di KORCZYNSKI (1905) su un più rigoglioso sviluppo di cocchi piogeni in filtrati di bacilli tubercolari.

Così DHERS sostiene un principio batteriolitico del prodigioso sul BK, opinione non condivisa per es. da BARGLOWSCHI.

Sulle modificazioni morfologiche del BK cresciuto in cultura con il piociano riferiscono GESSARD, FERNBACH e RULLIER, essi videro comparsa di formazioni granulari del BK e la perdita dell'acido-alcol resistenza. La stessa influenza esercita sul BK un filtrato di Piociano cresciuto in brodo.

Secondo PASSINI il Bac. Pubrificus Verrucosus altera in 9 giorni talmente il BK da impedirne definitivamente la sua crescita tanto su terreno di cultura quanto in prova biologica su cavia.

CANNEYT infettando una cultura di BK, cresciuti su patata glicerinata, con *b. subtilis* poté osservare che il *b. subtilis* diffondendosi rapidamente su tutto il terreno invade e dissolve completamente la patina dei BK. Simile azione antagonista eserciterebbe con minore intensità il bacillo mesenterico. Nei filtrati di culture in brodo di *b. subtilis*, i bacilli tub. muoiono entro 20 giorni. Il controllo sugli animali non ha dimostrato una alterazione della virulenza del BK così trattato, nel senso che finché i BK sono ancora in vita si dimostrano pienamente virulenti.

Su un certo antagonismo fra BK e monilie in culture liquide riferisce MAHER. Questa asserzione parrebbe convalidata dalle osservazioni cliniche del MANCA il quale esaminando espettorati di 50 malati di tbc. con presenza di monilie nel 26 % dei casi, notò che i BK sono in rapporto inverso al fungo.

BESTA riferisce su un'osservazione parallela di JUNKER.

Recentemente BORSOTTI in esperimenti sugli animali afferma che BK e miceti possono sommare la loro azione patogena, raggiungendo l'effetto letale con dosi separatamente insufficienti a provocarne la morte dell'animale.

WOLDRICH e SINGER riferiscono su esperimenti di culture miste del BK col *B. coli* comune, col *B. tifo* e del paratifo. Nelle culture simultanee i BK non giunsero mai allo sviluppo, nelle culture di BK già cresciute e secondariamente infettate, tanto di BK come i germi inoculati degeneravano contemporaneamente.

In Italia PETRAGNANI e la sua scuola hanno studiato in una serie di importanti ricerche l'eventualità di fenomeni antibiotici tra un gruppo cospicuo di germi ed il BK. Il PETRAGNANI per primo riferisce su esperienze eseguite seminando secondariamente culture in brodo dell'età di 12 giorni di BK ceppo VALLÈ con un'ansata di uno dei seguenti germi: tifo, coli, colera, carbonchio, proteus 19, melitense, stafilococco, piociano, prodigioso ed anche con alcuni anaerobi (*aedematensis*, tetano, phallax).

Da queste ricerche l'autore trae deduzioni, oltre che su un'azione pseudo-dissociante dei suelencati germi sul BK, anche sulla diversa capacità del BK di vivere in presenza dei diversi germi. Nei brodi infettati rispettivamente con tifo, prodigioso, piociano, il BK non sopravvive dopo 12 giorni, col *B. coli* invece i BK si sviluppano ancora. Fra gli anaerobi il *B. tetanico* favorisce lo sviluppo del BK che all'opposto viene ostacolato dal phallax. Un vero mutualismo pare si stabilisca fra bacillo tubercolare e carbonchio.

Le ricerche del PETRAGNANI furono continuate in parte dai suoi allievi.

Il VANNI illustrò il potere antibiotico del proteus e del *B. coli* sul bacillo tubercolare; il BUONOMINI constatò la presenza nel *B. prodigiosus* di un potere antibiotico verso il BK.

Su un'osservazione importante riferisce PUNTONI. PUNTONI osservò che un ceppo di bacillo tub. umano di collezione del laboratorio, ancora virulento nel 1919 divenne avirulento dal 1926 in poi. L'A. poté osservare che questo ceppo divenuto avirulento cresceva in associazione con un altro germe il

Bacillus tuberculophilus e affermava che la convivenza di questo germe col BK ne poteva abbassare fortemente il grado di virulenza.

Un discreto numero di AA. si è interessato in modo particolare della influenza dei miceti sul BK e di questi alcuni lavori abbiamo già citato (MANCA, BORSOTTI, SCHACHSWARLY, WOLDRICH). Ma le ricerche più vaste, anche per le deduzioni che l'A. ne trasse sono quelle del VAUDREMER.

VAUDREMER condusse delle esperienze con filtrato di funghi studiando l'influenza di prodotti del ricambio di miceti sul BK.

In particolare egli studiò l'azione di filtrati di *Aspergillus fumigatus* e *Penicillium Glaucum* coltivati per un mese a 38 in terreno di RAULIN sui bacilli tubercolari osservando che questi perdono l'acido resistenza e la proprietà tubercolinica. VAUDREMER cercò di utilizzare i suoi risultati per esperimento di immunizzazione nei bovini e nelle cavie e costruì una sua teoria sul polimorfismo ciclico del bacillo tubercolare e sulla esistenza della forma filtrabile.

I risultati del VAUDREMER hanno potuto essere in parte contestati dal WEISFEILER. Questo A. ritiene che la diversità nei risultati sia causata molto probabilmente alla diversità dei ceppi adoperati.

Ulteriori ricerche sull'influenza del fermento di fungo sull'acido resistenza dei BK sono state eseguite da GRAFF. Secondo le ricerche di questo A. con i fermenti di *Aspergillus niger* e *mucor* si riesce ad influenzare facilmente l'acido resistenza dei tipi umano e bovino non però del tipo ovario.

PROCA al contrario con emulsioni di *Oidium Albicaus* e di *Saccaromyces Cerevisiae* in soluzione fisiologica ottiene terreni di cultura molto favorevoli che egli chiama « milieu microbien vivant ».

Le mie esperienze si propongono di studiare una parte del complesso problema relativo alla convivenza dei microrganismi e cioè l'influenza di filtrati di un dato gruppo di miceti su ceppi diversi di BK.

Questo procedimento di studio escludendo la convivenza diretta di due microrganismi messi in uno stesso ambiente culturale elimina la possibilità di influenze antagoniste dirette, come può essere la soffocazione meccanica di un germe per sviluppo troppo rigoglioso dell'altro, ed esclude pure, in parte almeno, la possibilità di azioni indirette inerenti le modificazioni chimiche del terreno come l'eccessivo sfruttamento e depauperamento dello stesso delle sue sostanze costituenti.

Studiando l'influenza di filtrati di culture liquide di un dato germe sul BK ho creduto di prendere essenzialmente in considerazione l'azione delle sostanze del ricambio endo o esogeno di un microrganismo sullo sviluppo di un altro.

In questo primo gruppo di ricerche che si possono considerare di orientamento, ho saggiato l'influenza di un discreto numero di miceti sul BK e precisamente ho preso in considerazione i ceppi che qui sotto elenco colle rispettive denominazioni abbreviate di laboratorio: P 237 *Aspergillus Niger* PUNTONI: Lab. Batt. Pavia. — P 230 *Aspergillus Fumigatus*. PUNTONI: Lab. Batt. Pavia. — P 229 *Aspergillus Albus*. PUNTONI: Lab. Batt. Pavia. — P 1 *Moullia albicans* 2112. Nat. Coll. Cultures Lister Institute, isolato da CRAIK da un caso di mugghetto. — R 2 *Endomyces Albicans* 2078 isolato da TOUNER da una lesione del dorso della mano. — R 4 *Micotorula Albicans*. LEVY: provenienza sconosciuta. — R 5 *Endomyces Albicans* 2091 da R. CHOYAT: Inst. Botanique Univer. Ginevra.

I ceppi tubercolari esaminati sono i due ceppi di collezione del nostro laboratorio l'H 522 ceppo umano, e il B 12 ceppo bovino.

In questo primo gruppo di esperienze in cui mi sono limitato alle prove culturali, le ricerche sono state eseguite seguendo due diverse modalità di tecnica: sia seminando i BK su terreni liquidi costituiti da miscele a varia concentrazione di terreno di SAUTON con filtrati di funghi, sia seminando i BK su terreni solidi dopo una permanenza per tempi vari in sospensione nei filtrati a varie diluizioni.

Nel primo gruppo di ricerche i BK restano evidentemente a contatto con i filtrati per tutta la durata del loro sviluppo e crescono su un terreno costituito in parte almeno dai filtrati stessi. Colla seconda modalità i BK dopo un soggiorno vario a contatto intimo con i filtrati vengono sottratti alla loro influenza e seminati su terreni normali solidi.

I. — *Sviluppo del BK in terreni liquidi costituiti da Sauton e filtrati di miceti a varie diluizioni.*

Preparazione dei filtrati e tecnica delle ricerche. — Da una cultura di miceti dell'età di 20 giorni cresciuti su agar, vengono seminate due ansate in terreni di HANSEN. Le culture di 72 h. su terreno HANSEN vengono filtrate attraverso candela CHAMBERLAIN L. 3. Un campione di ogni filtrato viene costantemente seminato su agar CAROTA e SABOURRAUD per controllarne la sterilità.

I vari filtrati così ottenuti vengono mescolati nelle proporzioni del 50% e 25 %, con terreno liquido di SAUTON. Su questa miscela di terreno di cultura viene poi seminata depositandola in superficie un'ansata dei BK in esame, prelevandoli da una cultura in terreno liquido di SAUTON dell'età di 20 giorni.

Furono eseguiti controlli colle stesse proporzioni di SAUTON e HANSEN.

Dalla osservazione delle tabelle esposte (v. pag. seguente) possiamo trarre alcune deduzioni.

1° Vi sono ceppi di funghi i cui filtrati mescolati alle proporzioni del 50 e 25 % al terreno di cultura manifestano una azione inibente lo sviluppo del BK. Questa azione inibente può arrivare per qualche filtrato fino alla eliminazione di ogni facoltà di crescita del BK.

Particolarmente attivi in questo senso sono i tre ceppi di aspergilli esaminati e in minor grado un ceppo di micotorule (R 1).

2° Alcuni filtrati non dimostrano nelle nostre esperienze, nessuna azione evidente sulla crescita del BK (R 2, R 4).

3° Per alcuni ceppi pare potersi documentare una lieve azione favorente lo sviluppo del BK (R 5).

4° Esiste un certo parallelismo nell'influenza esercitata dai vari filtrati sui due ceppi tubercolari in esame l'H 522 umano e il B 12 bovino, benché nel ceppo bovino l'influenza inibente dei filtrati sembra più manifesta; va però rilevato che il ceppo bovino in esame cresce assai stentatamente su terreni liquidi come ci dimostrano anche i controlli.

Naturalmente questi dati di valutazione generica vanno considerati con una certa larghezza, in vista soprattutto del fatto che la quantità di bacilli seminati in ogni matraccio non è precisata ed uguale, che è difficile graduare il reale sviluppo di una patina tubercolare su terreno liquido. Ne va dimenticato il fatto che su terreno liquido la crescita del BK è di per sé difficile, ne è regolare e costante ma soggetta ad influenze non sempre valutabili e comunque estranee ai nostri intenti di ricerca.

Un certo maggior valore possono avere quei dati ove è evidente un ostacolo completo sulla crescita del BK.

CRESITA DEL CEPPU UMANO H 522 SEMINATO IN DOSE DI UN'ANSATA (DA CULTURE LIQUIDE) SU TERRENI LIQUIDI COSTITUITI DA FILTRATI DI FUNGHI IN HANSEN ADDIZIONATI A TERRENO DI SAUTON NELLE PROPORZIONI DEL 50% E DEL 25%.

FILTRATI	L E T T U R A		
	dopo 12 giorni	dopo 25 giorni	dopo 45 giorni
R 1 50 %	⊖	⊖	⊖
R 1 25 %	+ -	++	+++
R 2 50 %	+ -	+++	+ - +++
R 2 25 %	+ -	+++	++++
R 4 50 %	+ -	++	++++
R 4 25 %	+	+++	++++
R 5 50 %	+	+++	++++
R 5 25 %	++	+++	++++
P 229 50 %	⊖	⊖	⊖
P 229 25 %	+	++	++
P 230 50 %	⊖	++	++
P 230 25 %	+ -	++	++
P 237 50 %	+ -	++	++
P 237 25 %	+	+++	+++
Controlli :			
Hansen + Souton 50 % . . .	+	++	++++
" " 25 %	+	+++	++++

CRESITA DEL CEPPU BOVINO B 12 SEMINATO IN DOSE DI UN'ANSATA IN SUPERFICIE SU TERRENO LIQUIDO COSTITUITO DA FILTRATI DI FUNGHI ADDIZIONATI A TERRENO DI SAUTON AL 50% E AL 25%.

FILTRATI	L E T T U R A		
	dopo 12 giorni	dopo 25 giorni	dopo 45 giorni
R 1 50 %	⊖	⊖	⊖
R 1 25 %	+ -	+	+
R 2 50 %	+ -	+	+
R 2 25 %	+ -	+ -	+
R 4 50 %	+ -	+	++
R 4 25 %	+ -	+	++
R 5 50 %	+ -	+	+++
R 5 25 %	+ -	+	+++
P 229 50 %	+ -	+ -	+ -
P 229 25 %	+ -	+ -	+ -
P 230 50 %	⊖	⊖	⊖
P 230 25 %	⊖	⊖ (inq.)	⊖
P 237 50 %	+ -	+ -	+ -
P 237 25 %	+ -	+ -	+ -
Controlli :			
Hansen + Souton 50 % . . .	++	+++	+++
" " 25 %	+ -	+ -	++

Valore delle crocette :

- ++++ = Tutta la superficie del terreno coperto da patina spessa.
- +++ = 3/4 della superficie coperta da patina.
- ++ = 2/4 " " " "
- + = 1/4 " " " "
- + - = 1/8 " " " "

II. — Crescita del BK su terreni di cultura solidi dopo varia permanenza in sospensione di filtrato.

I risultati delle prime ricerche mi hanno indotto ad estendere le osservazioni modificando opportunamente la tecnica in modo da poter partire da dati di ricerca molto più precisi e controllabili.

Ho così pensato di preparare sospensioni a tasso noto del BK nei filtrati puri e opportunamente diluiti e seminare poi a distanza regolare di tempo le varie sospensioni dei BK in quantità fisse su terreni solidi di PETRAGNANI.

Con questo procedimento ho creduto di ovviare ad alcuni inconvenienti; prima di tutto i BK vengono dosati per ogni singola prova così da rendere più attendibili ed omogenei i risultati delle esperienze. In secondo luogo colla sospensione dei bacilli nei filtrati si rende più intimo il contatto di essi coi filtrati. In ultimo il fatto di poter mantenere per tempi fissi e determinati il contatto dei BK con diluizioni scalari di filtrato permette di meglio graduare l'intensità dell'azione dei filtrati sulla biologia dei bacilli tubercolari.

Il procedimento tecnico adottato è il seguente:

Col solito metodo vengono allestiti i filtrati dei miceti in esame.

Ogni filtrato viene usato puro e diluito 75 %, 50 %, 25 %, 5 %, in soluzione fisiologica.

Con ogni filtrato vengono allestite due batterie di provette contenenti cc. 2, ogni provetta delle singole diluizioni scalari.

A parte viene preparata una emulsione di H 522 e B 12 al tasso di 1 mmg. ogni cc. 3 di sol. fis.

In ogni provetta contenente cc. 2 delle deluizioni dei filtrati viene seminato cc. 0,20 delle sospensioni dei ceppi H 522 e B 12 cioè si formano nei vari filtrati sospensioni di BK al tasso di 1/10 di mmgr. per cc.

Come controlli servono miscele di concentrazione analoga di HANSEN più soluz. fisiologica e soluz. fisiologica pura in cui vengono allestite sospensioni di BK allo stesso titolo.

Dopo una permanenza di 4, 24, 72, 96 ore in termostato, ciascuna sospensione bacillare viene seminata in tre provettoni PETRAGNANI alla dose di una ansata ogni provettone (1).

I risultati sono riassunti nelle tabelle qui di seguito riportate.

Prendiamo prima in considerazione l'azione dei filtrati sul bacillo umano H 522.

Da un primo sguardo d'assieme alle tabelle risalta subito un fatto degno di nota: esiste una netta differenza fra l'influenza esercitata sul BK dagli aspergilli e quella esercitata dall'altro gruppo di miceti (Micotorule, Monilie, Eudomices); mentre nel primo gruppo è manifesta una intensa azione inibente lo sviluppo sul BK umano, nei funghi del secondo gruppo questa azione è meno uniforme e per taluni assolutamente assente. Fa eccezione il ceppo R 1 (Monilia Albicans) la cui influenza ostacolante la crescita del BK è nettamente palese.

(1) Evidentemente per ottenere una più esatta interruzione dell'azione del filtrato nei BK dopo i tempi determinati, sarebbe stato più corretto lavare i BK in soluz. fisiologica prima della semina. A parte però l'enorme complicazione tecnica del procedimento data la quantità delle prove, mi parve non scervo di inconvenienti il fatto di far subire una ulteriore manipolazione ai bacilli in esame e d'altronde pensai non doversi attribuire reale importanza come fattore influenzante ulteriormente la biologia del BK a quella minima quantità di filtrato strisciato sul terreno da una ansata.

CRESITA DI BK UMANO U 522 SU TERRENI PETRAGNANI
DOPO-PERMANENZA PER TEMPI DIVERSI NELLE SOSPENSIONI DI FILTRATI DI FUNGHI E VARIE CONCENTRAZIONI.

FILTRATI	Prima lettura (dopo 21 giorni dalla semina)					Seconda lettura (dopo due mesi dalla semina)				
	Dopo 4 h	Dopo 24 h	Dopo 72 h	Dopo 96 h	Dopo 4 h	Dopo 24 h	Dopo 72 h	Dopo 96 h		
P 229 100 %	+	⊖	⊖	⊖	⊖	+	⊖	⊖	⊖	
P 229 75 %	+	⊖	⊖	⊖	⊖	+	⊖	⊖	⊖	
P 229 50 %	+	⊖	⊖	⊖	⊖	+	⊖	⊖	⊖	
P 229 25 %	+	⊖	⊖	⊖	⊖	+	⊖	⊖	⊖	
P 229 5 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
P 230 100 %	+	⊖	⊖	⊖	⊖	+	⊖	⊖	⊖	
P 230 75 %	+	⊖	⊖	⊖	⊖	+	⊖	⊖	⊖	
P 230 50 %	+	⊖	⊖	⊖	⊖	+	⊖	⊖	⊖	
P 230 25 %	+	⊖	⊖	⊖	⊖	+	⊖	⊖	⊖	
P 230 5 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
P 237 100 %	+	⊖	⊖	⊖	⊖	+	⊖	⊖	⊖	
P 237 75 %	+	⊖	⊖	⊖	⊖	+	⊖	⊖	⊖	
P 237 50 %	+	⊖	⊖	⊖	⊖	+	⊖	⊖	⊖	
P 237 25 %	+	⊖	⊖	⊖	⊖	+	⊖	⊖	⊖	
P 237 5 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Controlli:	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Soluz. fisiol.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Hansen + Sol. fis. 100 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
" 75 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
" 50 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
" 25 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
" 5 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

(1) È noto che da alcuni AA. (Petragnani, ecc.), è stato dimostrato un potere antibatterico sul BK da parte della soluzione fisiologica. Sui ceppi da noi presi in esame questa azione antibatterica della soluzione fisiologica è anche manifesta se pure sempre molto debole. Essa però non toglie valore alle nostre esperienze dalle quali si rileva un potere battericida assai maggiore nel confronto di quella nella soluzione fisiologica che è servita quozip. olti

**CRESITA DI BK CEPPPO BOVINO B 12 SU TERRENI PETRAGNANI
DOPO PERMANENZA PER TEMPI DIVERSI NELLE SOSPENSIONI DI FILTRATI DI FUNGHI A VARIE CONCENTRAZIONI.**

FILTRATI	Prima lettura (dopo 21 giorni dalla semina)				Seconda lettura (dopo due mesi dalla semina)			
	Dopo 4 h	Dopo 24 h	Dopo 72 h	Dopo 96 h	Dopo 4 h	Dopo 24 h	Dopo 72 h	Dopo 96 h
R 1 75 %	++	⊖	⊖	⊖	+++	+++	⊖	⊖
R 1 50 %	++	⊖	⊖	⊖	+++	+++	⊖	⊖
R 1 25 %	++	+(a c)	⊖	⊖	+++	+++	+	+
R 1 5 %	++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++
R 1 100 %	++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++
R 2 100 %	++	⊖	⊖	+	+++	+++	+++	+++
R 2 75 %	++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++
R 2 50 %	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
R 2 25 %	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
R 2 5 %	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
R 4 100 %	++	+	+++	+	+++	+++	+++	+++
R 4 75 %	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
R 4 50 %	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
R 4 25 %	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
R 4 5 %	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
R 5 100 %	++	+(6 c)	+(1 c)	+(1 c)	+++	+++	+++	+++
R 5 75 %	++	(5 c)	⊖	(1 c)	+++	+++	+++	+++
R 5 50 %	++	+++	+(1 c)	(4 c)	+++	+++	+++	+++
R 5 25 %	++	+++	+	(20 c)	+++	+++	+++	+++
R 5 5 %	++	+++	+	(40 c)	+++	+++	+++	+++
Controlli :								
Soluz. fisiol.	++	++	++	++	++	++	++	++
Hansen + Sol. fis. 100 %	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
" " 75 %	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
" " 50 %	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
" " 25 %	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
" " 1 %	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Tutti i miceti però manifestano la loro influenza sul BK nel senso di un ritardo nello sviluppo del germe stesso come è possibile vedere dalle letture eseguite dopo 21 giorni dalla semina.

Passando ad esaminare più dettagliatamente i risultati elencati vediamo come, dopo 4 h di contatto con filtrati, i Bacilli di Koch conservino quasi sempre inalterata la loro vitabilità, fanno eccezione l'R 1, che usato puro inibisce già ogni crescita del BK, e in minor grado il P 229 e il P 237.

Dopo 24 h di contatto i BK crescono ancora bene nei filtrati dell'R 2, R 4, R 5, crescono molto meno e irregolarmente nei filtrati del P 229, P 230. Non crescono affatto nei filtrati del R 1 e P 237 alle concentrazioni del 100 %, 75 %, 50 % crescono ancora ma in quantità assai ridotta nei filtrati deluiti al 25 % e 5 %.

Dopo 76 h di contatto l'inibizione della crescita del BK è completa per il filtrato del P 237, ove non si manifesta più alcuna crescita anche alla diluizione del 5 %; è quasi completa per l'R 1, P 229, P 230 ove si verifica ancora una scarsissima crescita alla diluizione massima del 5 %.

Anche per i ceppi meno attivi dopo 72 h diventa evidente un certo ostacolo di crescita che si manifesta come inibizione completa solo nei filtrati non diluiti. L'R 2 fa eccezione non ostacolando in modo netto e costante la crescita del BK in rapporto con i rispettivi controlli.

Dopo 96 h di contatto, i dati non cambiano sostanzialmente; per ogni singolo ceppo è sempre più evidente l'ostacolo alla crescita del BK pur mantenendosi fra essi le rispettive proporzioni nell'intensità dell'azione antibatterica.

Solo nei filtrati dell'R 2 l'intensità della crescita del BK si mantiene quasi inalterata ed eguale a quella dei rispettivi controlli.

Se esaminiamo ora i dati riguardanti la crescita del ceppo *Bovino B 12* dopo permanenza nei vari filtrati osserviamo un certo parallelismo coi risultati ottenuti sul ceppo umano, nel senso che gli stessi miceti più attivi sul bacillo umano lo sono parallelamente sul bacillo bovino. V'è solo differenza nell'intensità dell'azione batteriostatica che è meno manifesta sul ceppo bovino. Particolarmente l'R 1 benchè sia anche qui il più attivo fra i miceti del suo gruppo non ha una così manifesta azione ostacolante per il ceppo bovino come per il ceppo umano.

I ceppi meno attivi sul ceppo umano non manifestano nessuna azione evidente di ostacolo sul ceppo bovino, se non come ritardo di sviluppo.

In breve sembra che il bacillo bovino presenti una maggior resistenza all'azione ostacolante dei filtrati dei funghi, in esame, pur mantenendosi costanti i rapporti nell'intensità d'azione dei vari filtrati sui due ceppi umano e bovino. Questo fatto appare in evidente contrasto con quanto abbiamo constatato nelle prove su terreni liquidi ove appariva più manifesta l'azione inibente dei filtrati sul ceppo bovino. Va però anche qui richiamato il fatto che il ceppo B 12 cresce di per sè meno bene del ceppo H 522 in terreni liquidi.

CONCLUSIONI.

Lo studio dell'influenza esercitata da alcuni filtrati di miceti (R 1 *Molinia Albicans*, R 2 *Endomices Albicans*, R 4 *Micotorula Albicans*, R 5 *Endomices Albicans*, P 229 *Aspergillus Albus*, P 230 *Aspergillus fumigatus*, P 237 *Aspergillus Niger*) della famiglia delle micotorule e degli aspergilli, sulla biologia del BK umano e bovino (ceppi H 522 e B 12) con due tecniche sperimentali e colturali diverse ha dimostrato quanto segue:

1° Alcuni filtrati di miceti messi con varie modalità a contatto col BK umano e bovino non esercitano su esso alcuna azione o esercitano un'in-

fluenza scarsa sotto forma di un lieve ostacolo e ritardo nello sviluppo del BK stesso.

2° Altri filtrati di funghi (R 1, P 225, P 230, P 237) manifestano una azione netta di ostacolo sulla crescita tanto del BK umano che del bovino.

3° L'azione ostacolante quasi parallela per gli stessi funghi sui due ceppi del BK umano e bovino è però più intensa sul primo che sul secondo.

4° Quest'azione di ostacolo è manifesta per gli stessi funghi tanto, benchè più irregolarmente, nelle esperienze con semina dei BK su terreni liquidi costituiti da filtrati e terreno di SAUTON, quanto nelle ricerche con semina su terreni solidi di PETRAGNANI, dei BK trattati coi filtrati.

Questa influenza è sempre però più manifesta e costante e ben graduabile nelle prove sui terreni solidi anche per la maggior proprietà e precisione di tecnica.

5° Nelle prove sui terreni solidi l'azione batteriostatica di alcuni filtrati (R 1, P 237) può arrivare fino all'ostacolo completo della crescita del BK umano (ceppo H 522) dopo un contatto di 24 h con filtrato diluito al 25 % con soluz. fisiologica.

6° Il filtrato del ceppo P 237 il più attivo di tutti, inibisce qualsiasi sviluppo del bacillo tbc. umano alla diluizione del 5 % dopo 72 h di contatto e quello bovino dopo lo stesso tempo alla diluizione del 25 %.

Dal complesso di questo primo gruppo di ricerche pare di poter affermare che nel filtrato di alcuni tra i funghi esaminati esiste un principio ostacolante la crescita del BK tanto umano che bovino; che questo principio attivo esiste solo in alcuni miceti e non in altri, che è di grado diverso e forse costante nei vari miceti, che non è legato al fattore famiglia dei vari funghi, poichè funghi della stessa famiglia possono manifestare proprietà diverse e forse anche antagoniste.

A questo primo gruppo di ricerche seguiranno ulteriori indagini rivolte a meglio accertare e ad individuare questo principio ad azione ostacolante sulla biologia del BK presente nei vari funghi, a controllarlo col sussidio di inoculazioni su cavia e a inquadrarlo possibilmente nelle sue caratteristiche biologiche fisiche e chimiche.

RIASSUNTO

L'A. studia l'azione dei filtrati di un gruppo di miceti della famiglia delle micotorule e degli aspergilli su ceppi di bacillo tubercolare umano e bovino. In base alle sue esperienze afferma che di fronte a miceti inattivi sulla biologia del bacillo tubercolare, ve ne sono altri che manifestano una notevole attività antibatterica tanto sul bacillo tubercolare umano che sul bovino.

RÉSUMÉ

L'A. étudie l'action des filtres d'un groupe de mycètes de la famille des microrules et des aspergilles sur des troncs de bacille tuberculeux humain et bovin. Sur le base de ses expériences il affirme que de front aux mycètes inactifs sur la biologie du bacille tuberculeux, il y en a d'autres qui manifestent activité antibattericide notable aussi bien sur le bacille tuberculeux humain que bovin.

ZUSAMMENFASSUNG

Verf. untersucht die Wirkung der Filtrate einer Mycetengruppe aus der Familie der Mikrotorulen und Aspergillen auf den menschlichen und bovinen Tuberkelbazillus.

Auf Grund seiner Untersuchungen erklärt Verf., dass ausser den, auf die Biologie des Tuberkelbazillus, inaktiven Myceten andere vorhanden seien, die eine bedeutende antibakterische Wirkung sowohl auf den menschlichen als auf den bovinen Tuberkelbazillus ausüben.

SUMMARY

The author has studied the action of the filtrates of a group of fungi of the mycotorula and aspergillus species upon stocks of human and bovine tubercle bacillus, and on the basis of his experiments, he finds that besides those fungi which do not affect the tubercle bacillus biologically, there are others that have a noteworthy antibacterial action on both the human and the bovine tubercle bacillus.

RESUMEN

El autor estudia la acción de los filtrados de un grupo de micetos de la familia de las micorotulas y de los aspergillos sobre cepos de bacilo tuberculoso humano y bovino. En base a su experiencia afirma que frente a micetos inactivos sobre la biología del bacilo tuberculoso, hay otros que manifiestan una notable actividad antibacterica tanto sobre el B. tuberculoso humano como sobre el bovino.

BIBLIOGRAFIA

- BARGOLOŪSKI. — « Helvet. Med. Acta », 4, 1937, p. 72.
 BESTA. — « Beitz Klin. Tbk. », 84, 1933, p. 140.
 BESTA e KUHN. — « Hyc. », 116, 1934, p. 120.
 BORSOTTI. — « La med. contemporanea », 1936, II, 664.
 BUONOMINI G. — « Atti R. Acc. Fisioc. », Siena, 1933, XI, I, 4, 375.
 CANNEYT. — « C. R. Soc. Biol. », Paris, 95, 1926, p. 878.
 KEDROUSKY. — « ZBL. Tbk. », 45, 453.
 LINTCHEVSKAIA. — « Probl. Tub. », 1938, 21, 7-8.
 MAHER. — « Amer. Rev. tbc. », 29, 1934.
 MANCA. — « Ref. Bbl. Tbk. Forsch. », 27, 1927, p. 599.
 MADEL, GYRJEWIA e PIROGOWA. — « Beitr. Klin. Tbk. », 83, 1933, p. 29.
 MOHT. — « Archiv. Hys », III, 1934, p. 197.
 PETRAGNANI. — « Atti 4º Congresso Naz. Microbiol. », Milano, 1932.
 PROCA. — « C. R. Soc. Biol. », Paris, 112, 1933, p. 79.
 PUNTONI e SABATUCCI. — « Annali d'Igiene », Fasc. 7, 1930.
 ID. — « Annali d'Igiene », Anno XLIII (1933).
 ID. — « C. R. Soc. Biol. », Paris 1904, p. 165.
 PUNTONI e PAVIA. — « Annali d'Igiene », Anno XLIII, 1933.
 ID. — « Boll. Sez. It. Internaz. Microbiol. », Fasc. 3, 1933.
 ID. — « Boll. Sez. It. Internaz. Microbiol. », Fasc. 5, 1934.
 PETRAGNANI C. — « Boll. Sez. It. Microbiol. », 264, ottobre 1931.
 PATRAGNANI e MAZZETTI. — « Atti IV Congr. Naz. Micr. », Milano 1932.
 REDAELLI P. — I miceti come associazione microbica sulla tbc. pulm. cavitaria. Ed. Pavia 1925.
 ROSENFELD. — « Zbl. Tbk. », 50, 430, 1939.
 VANNI S. — « Boll. R. Acc. Fisioc. », Siena, 1933, Serie XI, Vol. I, n. 4, 1937.
 ID. — « Boll. Internaz. Microbiol. », Milano novembre 1933.
 WANPREMER. — « La Presse Med. », 1938, n. 61, p. 177.
 WELSCH. — « C. R. Soc. Biol. », 1936, 123, 1013.
 WELSCH. — « C. R. Soc. Biol. », 1929, 130, 800.
 ID. — « C. R. Soc. Biol. », 1937, 124, 1240.

59169







~~11/2/11~~



