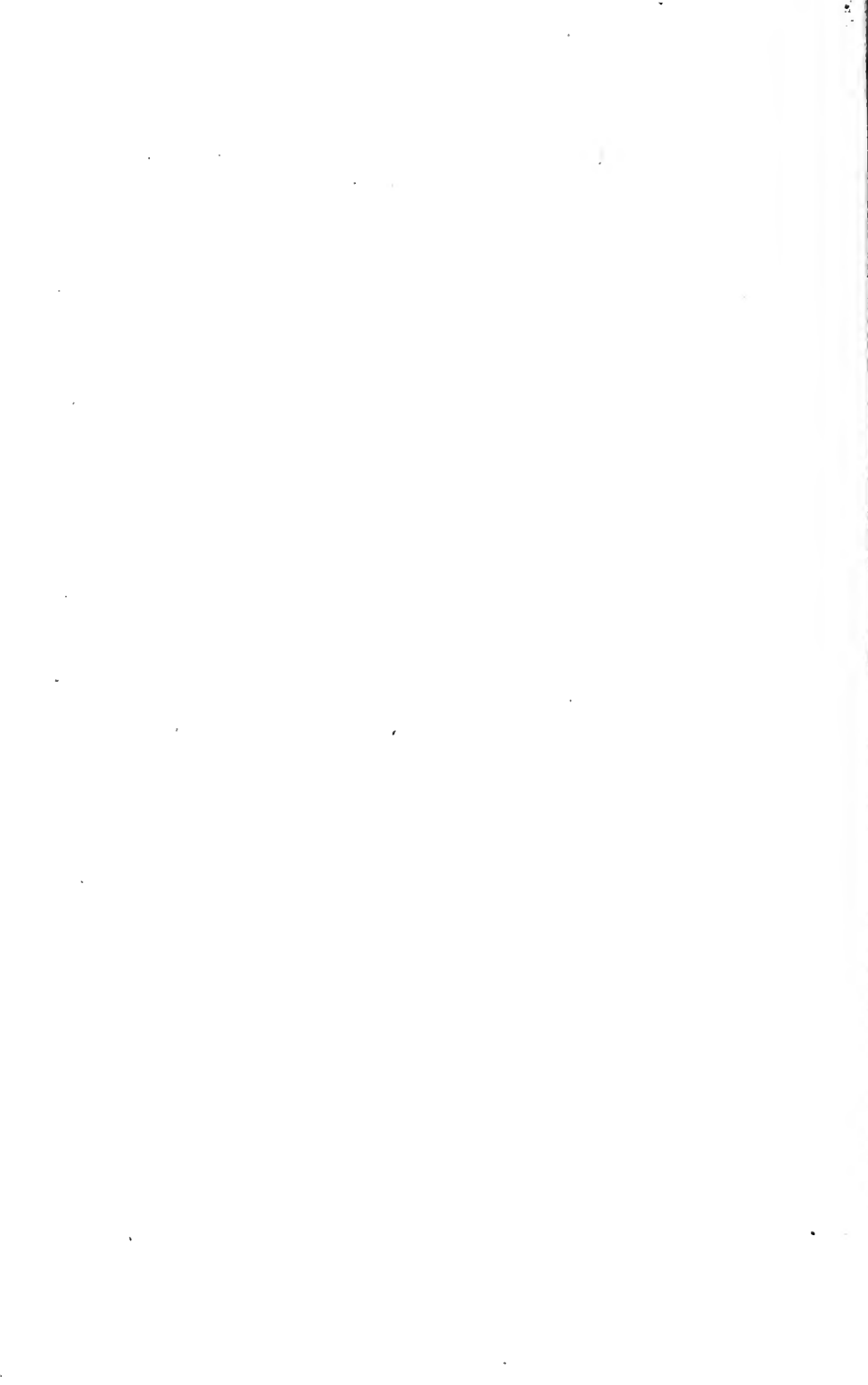


UBLIC SOUTHERN REGIONAL LIBRARY FACILITY

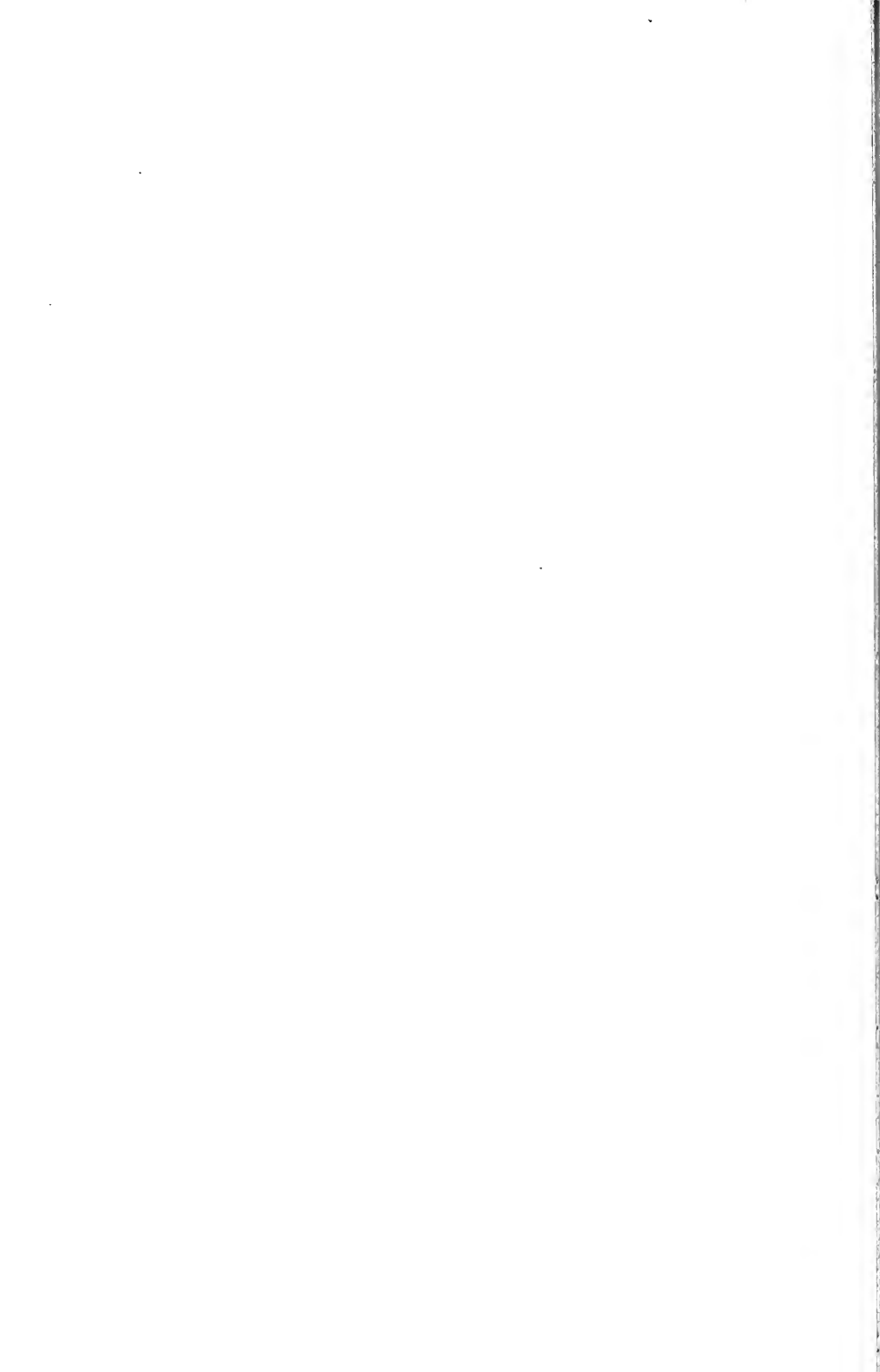


**G** 000 005 438 7









# MANUALE DELL'IGIENISTA

AD USO DI

UFFICIALI SANITARI, MEDICI PROVINCIALI, INGEGNERI, CHIMICI  
E VETERINARI IGIENISTI, UFFICI E LABORATORI D'IGIENE

PER CURA DEL

**Prof. ANGELO CELLI**

Direttore dell'Istituto d'Igiene della R. Università di Roma

CON LA COLLABORAZIONE DI

O. Casagrandi, A. Scala, I. Nosotti, D. Spatàro, T. Gualdi, C. Fradella

---

*Opera in 2 volumi*  
*corredati da numerose figure intercalate nel testo*

---

SECONDA EDIZIONE INTERAMENTE RIFATTA  
del *Manuale dell'Ufficiale sanitario*

---

VOL. I.

Microscopia - Protozoologia - Batteriologia - Chimica - Igiene delle carni e del latte.



ROMA - MILANO

SOCIETÀ EDITRICE DANTE ALIGHIERI

DI

ALBRIGHI, SEGATI e C.

1904

---

PROPRIETÀ LETTERARIA  
DELLA SOCIETÀ EDITRICE DANTE ALIGHIERI  
DI  
ALBRIGHI, SEGATI E C.

---

## PREFAZIONE

---

La prima edizione del *Manuale dell'ufficiale sanitario* è da tempo esaurita, e da qualche mese, mano a mano, si è pubblicata a dispense questa seconda.

Negli ultimi anni la scienza e l'arte dell'Igienista vennero perfezionandosi in tal guisa che tutti i capitoli del precedente manuale, oltrechè rifonderli, si dovettero ampliare e più riccamente illustrare. A questo modo, quasi senz'accorgerci e dirò pure senza volerlo, da uno siamo arrivati a due volumi, altrettanto grossi che quello primitivo.

Era già molto difficile in un volume, come nella pratica, delimitare il compito dell'ufficiale sanitario, cui tocca in ispecie nelle città più popolate conoscere e risolvere i molteplici quesiti che si affacciano per ognuno dei tanti argomenti d'igiene. E poi dove finisce l'opera sua, e incomincia quella dell'autorità sanitaria superiore, e dei laboratori di sanità, e dei chimici, veterinari, ingegneri suoi alleati nelle quotidiane battaglie per la vita e contro la morte?

A tutte queste ragioni si deve se il primo e scarso manuale dell'ufficiale sanitario è giunto fino ad essere questo nuovo e più ricco *Manuale dell'igienista*.

2P00309

Per comodità didattica e professionale dovemmo dividerlo in due volumi: il primo che comprende le ricerche di laboratorio, cioè Microscopia. Protozoologia. Batteriologia. Chimica, Ispèzione delle carni e del latte: il secondo che abbraccia le nozioni d'Igiene pratica, cioè Epidemiologia generale e speciale, Igiene del suolo e dell'abitato. Polizia sanitaria, trattata sempre e specialmente come una minuziosa propedeutica dell'ufficiale sanitario.

Questi ancora non è abbastanza, come avrebbe ad essere, la base ampia e ferma della piramide dell'amministrazione sanitaria. Una riforma legislativa e amministrativa s'impone verso tale meta ogni giorno più, e per secondarla, non oso dire per affrettarla, è forse bene che questa seconda edizione, oltrechè intieramente rifatta, esca anche ampliata in maniera da rispondere alle sempre maggiori esigenze del servizio sanitario.

Aumentando però la mole del libro non uscimmo dal campo esclusivo dell'igiene pratica, e quindi essenzialmente pratico è rimasto l'indirizzo dell'intiero manuale.

Con tutta la buona volontà mia e de' miei valorosi collaboratori, mende ce ne sono, e ne salteranno fuori senza dubbio: ma non domandiamo che d'esserne messi in guardia, per correggerle in un'altra che speriamo prossima edizione, augurando frattanto a questa l'accoglienza anche troppo favorevole ch'ebbe la prima.

Roma, 1° gennaio 1904.

ANGELO CELLI.



# INDICE ANALITICO

## MICROSCOPIA APPLICATA ALL'IGIENE.

MICROSCOPIO . . . . .	Pag.	1
Parte meccanica . . . . .	»	1
Parte ottica . . . . .	»	2
Ingrandimento e valore ottico dei microscopi . . . . .	»	6
Misurazione degli oggetti al microscopio . . . . .	»	7
Uso del microscopio. . . . .	»	8
Scelta del microscopio . . . . .	»	10
CARNI FRESCHE, CONSERVATE E GRASSO. . . . .	»	15
CARNI . . . . .	»	15
Esame microscopico per riconoscere a quale animale appartenga la carne in esame . . . . .	»	15
Esame microscopico per riconoscere se la carne appartenga ad animali affetti da malattie infettive . . . . .	»	18
Esame microscopico per riconoscere se la carne sia invasa da parassiti animali . . . . .	»	23
Carni cisticercate . . . . .	»	23
Carni con cisti . . . . .	»	25
Carni con larve di vermi . . . . .	»	27
Carni con vermi allo stato adulto . . . . .	»	28
Carni con sarcosporidi . . . . .	»	30
Esame microscopico per riconoscere se ad una data carne siano commiste sostanze estranee o carni di altri animali . . . . .	»	31
Esame microscopico per riconoscere se le carni siano fresche, frolle, putrefatte, degenerate, acariate, ammuffite, colorate . . . . .	»	32
GRASSO. . . . .	»	34
LATTE, FORMAGGIO E BURRO . . . . .	»	35
LATTE . . . . .	»	35
Esame microscopico per riconoscere se si tratti di vero latte o di colostro. . . . .	»	35

Esame microscopico per riconoscere se si tratti di latte proveniente da mammelle sane o ammalate. . . . .	Pag	36
Esame microscopico per riconoscere se il latte contenga germi che ne alterino la costituzione . . . . .	»	37
Esame microscopico del latte per riconoscere se esso contenga germi di malattie infettive . . . . .	»	40
Esame microscopico del latte per riconoscere se sia stato annacquato o scremato e mescolato a scopo di frode con sostanze diverse . . . . .	»	41
Esame microscopico per riconoscere se il latte contenga sudicine . . . . .	»	42
FORMAGGIO E BURRO . . . . .	»	43
FARINE, PANE E PASTE . . . . .	»	44
FARINE . . . . .	»	44
Esame microscopico per riconoscere da quale vegetale venga una farina . . . . .	»	45
Esame dei granuli di amido (caratteri delle diverse specie di amido) . . . . .	»	45
Esame del reticolo cotiledonare . . . . .	»	53
Esame microscopico dei peli. . . . .	»	56
Esame microscopico della crusca: tecnica di esame: diverse specie di crusca . . . . .	»	56
Esame microscopico e microchimico per riconoscere se in una farina esistano elementi appartenenti a semi nocivi. »		66
Esame per riconoscere se ad una farina sieno mescolate farine inferiori, fecole, segatura di legno, polveri minerali »		74
Mescolanza di frumento e mais . . . . .	»	74
» » leguminose . . . . .	»	77
» » segale . . . . .	»	78
» » orzo . . . . .	»	79
» » dura, grano saraceno, avena, riso. . . . .	»	80
» con polveri minerali . . . . .	»	83
Esame per riconoscere se la farina sia inquinata da parassiti . . . . .	»	83
Parassiti animali e vegetali. . . . .	»	85
PANE E PASTE . . . . .	»	91
CAFFÈ, THÈ, CACAO, CIOCCOLATTE, ZUCCHERO E MIELE . »		93
CAFFÈ . . . . .	»	93
Esame microscopico per riconoscere la qualità del caffè. »		94
Esame per riconoscere le adulterazioni del caffè (caffè in chicchi, caffè polverato, caffè spossato) . . . . .	»	95

THÈ . . . . .	Pag.	103
CACAO E CIOCCOLATTE . . . . .	»	105
ZUCCHERO E MIELE. . . . .	»	106
 DROGHE E SPEZIE . . . . .	 »	 107
PEPE. . . . .	»	107
ZAFFERANO . . . . .	»	111
CANNELLA . . . . .	»	115
GAROFANI . . . . .	»	116
NOCE MOSCATA . . . . .	»	117
 CONSERVE DI VERDURE . . . . .	 »	 118
CONSERVA DI POMIDORO . . . . .	»	118
 VINO, ACETO, BIRRA . . . . .	 »	 120
VINO. . . . .	»	120
Esame per riconoscere la natura del deposito . . . . .	»	121
Esame microscopico per riconoscere se il vino sia alterato da microrganismi. . . . .	»	121
ACETO . . . . .	»	123
BIRRA . . . . .	»	123
 ACQUA, ARIA, SUOLO . . . . .	 »	 125
ACQUA . . . . .	»	124
Tecnica per l'esame dell'acqua . . . . .	»	126
Reperto microscopico dell'acqua . . . . .	»	127
Residui minerali . . . . .	»	127
Residui organici . . . . .	»	127
Esseri viventi. . . . .	»	127
Vermi . . . . .	»	128
Protozoi . . . . .	»	133
Alghe. . . . .	»	135
Batteri filamentosi . . . . .	»	135
ARIA. . . . .	»	138
SUOLO . . . . .	»	141
 TESSUTI, PELLICCERIE, CARTA. . . . .	 »	 142
TESSUTI. . . . .	»	142
Esame per riconoscere quali siano le fibre tessili che com- pongono un tessuto . . . . .	»	142
Esame microscopico . . . . .	»	143

Esame microchimico . . . . .	Pag.	146
Esame polariscopico. . . . .	»	147
Esame microscopico per riconoscere se un tessuto sia formato da fibre tessili nuove o provenienti da tessuti fuori di uso. . . . .	»	148
PELLICERIE . . . . .	»	149
CARTA . . . . .	»	149

## PROTOZOLOGIA.

PARTE GENERALE . . . . .	Pag.	153 a	167
CARATTERI GENERALI DEI PROTOZOI . . . . .	Pag.	153	
Sensibilità, movimento, nutrizione . . . . .	»	154	
Riproduzione, dimora . . . . .	»	155	
Azione patogena . . . . .	»	156	
Reazioni dell'ospite . . . . .	»	157	
Autodegenerazioni . . . . .	»	158	
METODI DI RICERCA DEI PROTOZOI . . . . .	»	159	
Preparati a fresco . . . . .	»	159	
Preparati a fresco e colorazione vitale . . . . .	»	159	
Preparati e colorazioni a secco . . . . .	»	160	
Colture . . . . .	»	166	
Inoculazioni . . . . .	»	167	
PARTE SPECIALE . . . . .	»	167	
CLASSIFICAZIONE. . . . .	»	167	
RIZOPODI:			
Mietozoi . . . . .	»	168	
Amebe . . . . .	»	169	
MASTIGOFORI:			
<i>Tripanosomidi</i> . . . . .	»	177	
<i>Tripanosoma gambiense</i> . . . . .	»	177	
<i>Tripanosoma Castellani</i> . . . . .	»	179	
SPOROZOI:			
<i>Coccidi</i> . . . . .	»	181	
<i>Coccidium oviforme</i> . . . . .	»	181	
Vaccino e vaiuolo . . . . .	»	185	
<i>Molluscum contagiosum</i> . . . . .	»	186	
Tumori maligni . . . . .	»	186	
Rabbia . . . . .	»	187	
<i>Emosporidi</i> . . . . .	»	191	
<i>Plasmodium quartanae</i> . . . . .	»	191	
<i>Plasmodium tertianae laevis</i> . . . . .	»	192	

Plasmodium aestivoautunnale . . . . .	Pag. 194
Caratteri differenziali tra <i>Culex</i> e <i>Anopheles</i> . . . . .	» 196
Tecnica per l'esame delle zanzare malariche a fresco . . . . .	» 199
Apiosoma (pirosoma) . . . . .	» 200
MIXOSPORIDI . . . . .	» 201
MICROSPORIDI . . . . .	» 201
SARCOSPORIDI (psorospermi) . . . . .	» 201
Sarcocystis lindemanni . . . . .	» 201
CIGLIATI . . . . .	» 202
Balantidium coli . . . . .	» 202

**BATTERIOLOGIA.**

PROPRIETÀ GENERALI DEI BATTERI E TECNICA BATTERIOLOGICA.

PROPRIETÀ DEI BATTERI DIMOSTRABILI CON L'ESAME MICROSCOPICO	Pag. 210
<i>Soluzioni coloranti e preparati</i> . . . . .	» 210
Preparazione delle soluzioni coloranti . . . . .	» 210
Allestimento del preparato . . . . .	» 211
Preparati colorati . . . . .	» 211
Preparati a fresco . . . . .	» 214
Preparati a goccia pendente . . . . .	» 215
<i>Morfologia dei batteri</i> . . . . .	» 217
Grandezza . . . . .	» 217
Forma . . . . .	» 219
Disposizione . . . . .	» 219
Contenute e contenuto (capsule e nucleo) . . . . .	» 219
Dimostrazione della membrana . . . . .	» 221
Dimostrazione della capsula . . . . .	» 222
Dimostrazione del contenuto differenziato nella cellula batterica . . . . .	» 222
Metodo di Gram . . . . .	» 222
Colorazione dei granuli metacromatici . . . . .	» 224
Colorazione del grasso (colorazioni specifiche dei bacilli della tubercolosi) . . . . .	» 225
PROPRIETÀ BIOLOGICHE DEI BATTERI, DIMOSTRABILI CON L'ESAME MICROSCOPICO E COLTURALE . . . . .	» 228
<i>Movimento dei batteri</i> . . . . .	» 228
Movimento dei germi aerobici . . . . .	» 228
Movimento dei germi anaerobici . . . . .	» 229
Dimostrazione delle ciglia dei batteri . . . . .	» 231
<i>Riproduzione dei batteri</i> . . . . .	» 233
Riproduzione per divisione diretta . . . . .	» 233
Colonie . . . . .	» 235
Infissioni . . . . .	» 236

	<i>Pag.</i>
Patine . . . . .	237
Culture in terreni liquidi. . . . .	» 238
Riproduzione per spore . . . . .	» 238
Sporificazione . . . . .	» 239
Germogliazione delle spore . . . . .	» 241
Metodi per riconoscere le spore (Möller, Klein) . . . . .	» 242
Altri modi di riprodursi dei batteri . . . . .	» 243
<i>Nutrizione dei batteri</i> . . . . .	» 244
Assimilazione . . . . .	» 244
Trofismo <sup>1</sup> . . . . .	» 246
Terreni di coltura artificiali . . . . .	» 246
Tecnica per la preparazione dei terreni di coltura . . . . .	» 248
Terreni comuni . . . . .	» 248
Terreni speciali . . . . .	» 252
Terreni pel gonococco . . . . .	» 252
Terreni pel b. dell'influenza . . . . .	» 254
Terreni pel b. della tubercolosi. . . . .	» 255
Terreni pel b. della lepra . . . . .	» 255
Terreni pel b. della difterite . . . . .	» 255
Terreni pel v. del colera . . . . .	» 255
Terreni pel b. del carbonchio, ecc. . . . .	» 255
Terreni per muffe, blastomiceti e oidii . . . . .	» 255
Tecnica per l'isolamento e la coltivazione dei batteri . . . . .	» 256
Isolamento degli aerobi . . . . .	» 256
Isolamento degli anaerobi . . . . .	» 260
Coltivazione degli aerobi . . . . .	» 264
Coltivazione degli anaerobi . . . . .	» 266
Tecnica per l'incubazione delle colture batteriche . . . . .	» 268
Termostati . . . . .	» 268
Termoregolatori . . . . .	» 269
ATTIVITÀ CHIMICHE DEI BATTERI . . . . .	» 270
Pigmenti . . . . .	» 270
Processi di decomposizione organica (fermenti, enzimi, diastasi, lisine, sostanze tossiche) . . . . .	» 271
Dimostrazione degli enzimi . . . . .	» 272
Fermentazioni. . . . .	» 274
PROPRIETÀ DEI BATTERI DI FRONTE AGLI AGENTI FISICI E CHIMICI. . . . .	» 276
<i>Agenti fisici</i> . . . . .	» 276
Luce . . . . .	» 277
Elettricità e pressione atmosferica . . . . .	» 277
Disseccamento . . . . .	» 277
Scotimento . . . . .	» 278
Temperatura . . . . .	» 278
Sterilizzazione frazionata . . . . .	» 279
Sterilizzazione a secco . . . . .	» 280
Sterilizzazione ad umido . . . . .	» 281



Tecnica per studiare l'azione degli agenti fisici sterilizzanti	Pag	283
Filtrazione . . . . .	»	284
<i>Agenti chimici</i> . . . . .	»	»
Sostanze asettiche, battericide, sporicide . . . . .	»	287
Sterilizzazione con sostanze chimiche . . . . .	»	290
PROPRIETÀ DEI BATTERI VERSO GLI ORGANISMI VIVENTI . . . . .	»	291
<i>Condizioni perchè un germe esplichi un'azione patogena</i> . . . . .	»	292
Condizioni inerenti all'organismo . . . . .	»	292
Via d'entrata . . . . .	»	292
Animali recettivi e refrattari . . . . .	»	292
Condizioni inerenti al germe . . . . .	»	293
Virulenza . . . . .	»	294
Tossicità . . . . .	»	294
Veleni primari (tossine, proteine, ecc.) . . . . .	»	294
Veleni secondari (ptomaine, leucocidine, emolisine) . . . . .	»	296
<i>Tecnica per lo studio delle attività biochimiche dei batteri</i> . . . . .	»	297
Separazione dei veleni batterici primari: tossine, proteine, nucleo-proteidi, nucleie . . . . .	»	297
Separazione dei veleni secondari: emolisine, leucocidine . . . . .	»	301
<i>Tecnica delle inoculazioni dei batteri</i> . . . . .	»	302
Preparazione del materiale . . . . .	»	302
Siringa da inoculazione . . . . .	»	302
Fissazione e preparazione dell'animale . . . . .	»	304
Vie d'inoculazione . . . . .	»	304
Scelta dell'animale e luogo d'inoculazione . . . . .	»	305
<i>Tecnica per le autopsie batteriologiche</i> . . . . .	»	306
Sezione dell'animale infetto . . . . .	»	305
Reparti macroscopici generali . . . . .	»	307
Diagnosi batteriologica . . . . .	»	307
Preparati dagli organi . . . . .	»	307
Culture dagli organi . . . . .	»	308
Preparati dal sangue . . . . .	»	308
Culture dal sangue . . . . .	»	308
MODO DI COMPORTARSI DEI BATTERI RISPETTO AGLI UMORI DI ANI-		
MALI IMMUNIZZATI . . . . .	»	309
Teoria di Ehrlich . . . . .	»	310
Agglutinamento . . . . .	»	313
Precipitazione . . . . .	»	319
Battericidia . . . . .	»	320

CARATTERI DEI SINGOLI BATTERI PATOGENI  
E MEZZI DIAGNOSTICI

CLASSIFICAZIONE DEI BATTERI . . . . .	Pag.	321
LEPTOTRICEE, CLADOTRICEE, BEGIATOACEE . . . . .	»	325
Crenotrix . . . . .	»	326

Thiothrix . . . . .	Pag	326
Beggiatoe . . . . .	»	327
STREPTOTRICEE . . . . .	»	328
Caratteri morfologici . . . . .	»	329
Caratteri colturali . . . . .	»	329
Caratteri biologici . . . . .	»	330
<i>Actinomyces</i> . . . . .	»	331
Caratteri morfologici e biologici . . . . .	»	331
Diagnosi . . . . .	»	332
Identificazione . . . . .	»	332
Diagnosi differenziale . . . . .	»	332
MICOBATTERI . . . . .	»	334
<i>B. della tubercolosi</i> . . . . .	»	334
Caratteri morfologici . . . . .	»	335
Caratteri colturali . . . . .	»	335
Caratteri biologici . . . . .	»	336
Diagnosi . . . . .	»	337
Nello sputo . . . . .	»	337
Nei liquidi . . . . .	»	339
Nei tessuti . . . . .	»	340
Differenziale fra i vari b. della tubercolosi . . . . .	»	341
Id. coi b. della pseudotubercolosi . . . . .	»	342
Id. coi così detti bacilli dello smegna . . . . .	»	343
<i>B. della lepra</i> . . . . .	»	344
CORINEBATTERI . . . . .	»	345
<i>B. della difterite</i> . . . . .	»	346
Caratteri morfologici . . . . .	»	346
Caratteri colturali . . . . .	»	347
Caratteri biologici . . . . .	»	348
Diagnosi . . . . .	»	348
SCIFOBATTERI . . . . .	»	353
<i>B. della morra</i> . . . . .	»	353
Caratteri microscopici . . . . .	»	353
Caratteri colturali . . . . .	»	351
Caratteri biologici . . . . .	»	354
Diagnosi . . . . .	»	355
Identificazione . . . . .	»	355
Diagnosi differenziale coi pseudomorvosi . . . . .	»	56
<i>B. della peste</i> . . . . .	»	356
Caratteri microscopici . . . . .	»	357
Caratteri colturali . . . . .	»	357
Caratteri biologici . . . . .	»	358
Diagnosi . . . . .	»	358
Identificazione . . . . .	»	358
Diagnosi differenziale con altri germi . . . . .	»	360
<i>B. dell'ulcera molle e del noma</i> . . . . .	»	360

BATTERI PROPRIAMENTE DETTI . . . . .	Pag.	361
<i>B. emorragico</i> . . . . .	»	361
<i>B. ictericide</i> . . . . .	»	361
<i>Pasteurellosi</i> . . . . .	»	361
<i>B. delle setticemie emorragiche (Hüppe)</i> . . . . .	»	366
<i>B. marisettico e b. del Mal rosso dei suini</i> . . . . .	»	368
<i>B. dell'influenza</i> . . . . .	»	369
Caratteri morfologici, colturali e biologici . . . . .	»	369
Diagnosi . . . . .	»	372
Identificazione . . . . .	»	372
Diagnosi differenziale . . . . .	»	373
<i>B. capsulati</i> . . . . .	»	371
<i>B. pneumoniae Friedländer</i> . . . . .	»	371
<i>B. dell'ozema</i> . . . . .	»	375
<i>B. del rinoscleroma</i> . . . . .	»	376
<i>B. lactis aërogenes</i> . . . . .	»	376
<i>B. acidi lactici</i> . . . . .	»	377
PROTEI . . . . .	»	377
<i>B. zoppi e forme simili</i> . . . . .	»	378
<i>B. vulgare e forme simili</i> . . . . .	»	379
BATTERI DEL TIFO, DEL COLON E DELLA DISSENTERIA . . . . .	»	380
<i>B. del tifo</i> . . . . .	»	381
Caratteri morfologici . . . . .	»	381
Caratteri colturali . . . . .	»	382
Caratteri biologici . . . . .	»	383
Diagnosi . . . . .	»	384
Isolamento dalle feci e dall'urina . . . . .	»	384
Id. dall'acqua, dal latte, dai liquidi in genere . . . . .	»	385
Id. dalle roseole . . . . .	»	386
Id. dal sangue . . . . .	»	387
Identificazione (sierodiagnosi) . . . . .	»	387
Diagnosi differenziale coi similtili . . . . .	»	389
<i>B. coli comune</i> . . . . .	»	391
Caratteri morfologici . . . . .	»	391
Colturali . . . . .	»	392
Biologici . . . . .	»	393
Diagnosi . . . . .	»	393
Isolamento . . . . .	»	393
Identificazione . . . . .	»	394
Diagnosi differenziale col b. del tifo . . . . .	»	395
Id. con altre forme di b. coli . . . . .	»	100
Id. col b. della psittacosi . . . . .	»	401
<i>B. dissenterico</i> . . . . .	»	401
Caratteri morfologici . . . . .	»	401
Caratteri colturali . . . . .	»	402
Caratteri biologici . . . . .	»	402

Diagnosi . . . . .	Pag	403
Identificazione . . . . .	»	403
Diagnosi differenziale coi pseudo dissenterici . . . . .	»	406
Id. col b. del tifo . . . . .	»	406
Id. col b. coli . . . . .	»	406
<b>B. CROMOGENI.</b>		
<i>B. piociano</i> e altre forme fluorescenti: b. di Pottien, b. viridis; b. cianogeno . . . . .	»	407
<b>BACILLI PROPRIAMENTE DETTI . . . . .</b>	»	408
<i>B. del carbonchio ematico . . . . .</i>	»	409
Caratteri morfologici . . . . .	»	409
Caratteri riproduttivi . . . . .	»	410
Caratteri colturali . . . . .	»	411
Caratteri biologici. . . . .	» »	413
Diagnosi . . . . .	»	415
Isolamento . . . . .	»	415
Identificazione . . . . .	»	416
Diagnosi differenziale coi similcarbonchi . . . . .	»	417
Id. coi bacilli aerobici nel terreno, nei materiali in putrefazione, nell'acqua . . . . .	»	417
Id. col b. microide . . . . .	»	419
Id. col b. mesenterico . . . . .	»	419
Id. col b. megaterio . . . . .	»	420
Id. col b. sottile . . . . .	»	420
Id. col b. dell'edema maligno e col b. del carbonchio sintomatico . . . . .	»	420
<i>B. dell'edema maligno . . . . .</i>	»	421
Caratteri morfologici . . . . .	»	421
Caratteri colturali . . . . .	»	422
Caratteri biologici. . . . .	»	423
Diagnosi . . . . .	»	423
Isolamento . . . . .	»	423
Diagnosi differenziale col b. del carbonchio sintomatico. »	»	424
Id. con altri germi simili al b. dell'edema maligno . . . . .	»	425
<i>B. del carbonchio sintomatico . . . . .</i>	»	427
Caratteri morfologici . . . . .	»	427
Caratteri colturali. . . . .	»	428
Caratteri biologici . . . . .	»	428
Diagnosi . . . . .	»	429
Identificazione . . . . .	»	429
Diagnosi differenziale con altri germi del suolo. . . . .	»	429
<b>PLETTRIDI . . . . .</b>	»	430
<i>B. del tetano . . . . .</i>	»	430
Caratteri morfologici. . . . .	»	430
Caratteri colturali . . . . .	»	430
Caratteri biologici. . . . .	»	432

Diagnosi . . . . .	Pag	433
Identificazione . . . . .	»	433
Diagnosi differenziale coi b. tetanosimili . . . . .	»	435
<b>CLOSTRIDI</b> . . . . .	»	436
<i>B. fusiforme</i> di Vincent-Bernheim . . . . .	»	436
<b>VIBRIONI</b> . . . . .	»	437
<i>Fibrione del colera</i> . . . . .	»	437
Caratteri microscopici . . . . .	»	437
Caratteri colturali . . . . .	»	438
Caratteri biologici . . . . .	»	439
Diagnosi . . . . .	»	441
Isolamento dalle feci . . . . .	»	441
Id dall'acqua . . . . .	»	442
Id. dal suolo e da altri materiali . . . . .	»	442
Identificazione . . . . .	»	443
Diagnosi differenziale tra vibrioni colerigeni di varia provenienza . . . . .	»	443
Id tra il v. di Koch e il v. di Finkler-Prior . . . . .	»	444
»        » e il v. di Metschnikoff . . . . .	»	445
»        » e il v. di Deneke . . . . .	»	445
»        » e i vibrioni colerasimili delle acque . . . . .	»	446
»        » e i vibrioni fosforescenti dello sputo, del suolo . . . . .	»	447
<b>SPIRILLI E SPIROCHETI</b> . . . . .	»	448
<b>COCCACEE</b> . . . . .	»	449
<i>Stafilococchi</i> . . . . .	»	449
<i>Stafilococco piogeno</i> <i>albo</i> . . . . .	»	449
Caratteri morfologici, colturali e biologici . . . . .	»	449
Diagnosi . . . . .	»	450
Identificazione, diagnosi differenziale col micr. <i>candidans</i> . . . . .	»	450
Id con lo stafilococco aureo apigmentato . . . . .	»	451
<i>Stafilococco piogeno aureo</i> . . . . .	»	451
Caratteri morfologici colturali e biologici . . . . .	»	451
Diagnosi . . . . .	»	452
( <i>Stafilococco del rainolo</i> ) . . . . .	»	452
<i>Stafilococco piogeno citreo</i> . . . . .	»	452
<i>Stafilococco roseo</i> . . . . .	»	452
<i>Diplococchi</i> . . . . .	»	453
<i>Gonococco</i> . . . . .	»	453
Caratteri morfologici . . . . .	»	453
Caratteri colturali . . . . .	»	454
Caratteri biologici . . . . .	»	455
Diagnosi . . . . .	»	455
Ricerca nel pus . . . . .	»	456
Diagnosi differenziale con altri cocchi . . . . .	»	457

<i>Meningococco</i> . . . . .	Pag 451
<i>Diplococco dell'osteomielite</i> . . . . .	» 458
<i>Diplostreptococco del reumatismo</i> . . . . .	» 459
<i>Tetrageni</i> . . . . .	» 460
<i>Streptococchi</i> . . . . .	» 461
<i>Diplococco lanceolato</i> . . . . .	» 461
Caratteri morfologici . . . . .	» 461
Caratteri colturali . . . . .	» 461
Caratteri biologici . . . . .	» 462
Diagnosi . . . . .	» 463
Identificazione . . . . .	» 463
Diagnosi differenziale: varietà fibrinogena e varietà edematogena . . . . .	» 463
Varietà nevrotossica . . . . .	» 464
<i>Streptococco piogene</i> . . . . .	» 464
Caratteri morfologici . . . . .	» 461
Caratteri colturali . . . . .	» 464
Caratteri biologici . . . . .	» 465
Diagnosi . . . . .	» 465
SARCINE . . . . .	» 467
GERMI INVISIBILI O ULTRAMICROSCOPICI . . . . .	» 468
ESAME BATTERIOLOGICO DELL'ACQUA, DELL'ARIA E DEL SUOLO . . . . .	» 475
ESAME BATTERIOLOGICO DELL'ACQUA . . . . .	» 475
Apparecchi per prelevare i campioni . . . . .	» 476
Apparecchi per prelevamenti in superficie . . . . .	» 476
Id. a profondità rilevanti . . . . .	» 480
Recipienti per i substrati seminati . . . . .	» 482
Enumerazione dei germi: . . . . .	» 483
nelle colture arrotolate . . . . .	» 184
nelle piastre, nelle scatole di vetri, ecc . . . . .	» 181
Substrati per la semina . . . . .	» 487
Cassetta di trasporto . . . . .	» 487
Apparecchi per l'incubazione delle colture . . . . .	» 488
Precetti fondamentali di tecnica . . . . .	» 489
Microrganismi che si ricercano con l'esame batteriologico . . . . .	» 489
Id. con i metodi comuni . . . . .	» 490
schizomiceti . . . . .	» 490
blastomiceti, oidomiceti, ifomiceti . . . . .	» 501
Microrganismi che si ricercano con metodi speciali . . . . .	» 502
<i>b. coli</i> , <i>b. del tifo</i> . . . . .	» 503
<i>b. dissenterico</i> . . . . .	» 504
<i>v. del colera</i> . . . . .	» 504
anaerobi patogeni . . . . .	» 504



Considerazioni sui risultati degli esami delle acque . . .	Pag.	505
ESAME BATTERIOLOGICO DELL'ARIA . . . . .	»	507
Tecnica: per mezzo degli aëroscopi . . . . .	»	508
Id delle colture in gelatina . . . . .	»	508
Id del gorgogliamento in gelatina fluida . . . . .	»	509
Id del gorgogliamento in un liquido inerte . . . . .	»	510
Id. della filtrazione attraverso materiali solidi . . . . .	»	510
Id della inoculazione delle polveri . . . . .	»	513
Germi che si possono trovare nell'aria. . . . .	»	513
ESAME BATTERIOLOGICO DEL TERRENO E DEI MATERIALI DA		
COSTRUZIONE . . . . .	»	514
<i>Esame del terreno</i> . . . . .	»	514
Prelevamento del campione . . . . .	»	514
Semina del terreno . . . . .	»	515
Batteri banali del suolo . . . . .	»	517
Batteri patogeni del suolo . . . . .	»	518
<i>Esame del materiale da costruzione</i> . . . . .	»	520

## CHIMICA APPLICATA ALLA IGIENE.

### ACQUA.

<i>Generalità</i> . . . . .	Pag.	525
Norme per attingere l'acqua per l'analisi . . . . .	»	529
<i>Caratteri fisici</i> . . . . .	»	530
<i>Caratteri chimici</i> . . . . .	»	532
Determinazione del residuo secco . . . . .	»	532
Determinazione della durezza:		
col metodo di Clark . . . . .	»	534
col metodo Faist e Knauss. . . . .	»	535
col metodo di Boutron e Boudet . . . . .	»	538
col metodo di Giorgis e Feliciani . . . . .	»	540
Grado di durezza . . . . .	»	540
Alleggerimento delle acque:		
col processo di Clark . . . . .	»	543
col processo di Giorgis e Feliciani . . . . .	»	543
Determinazione dei metalli alcalini . . . . .	»	544
Determinazione del cloro:		
col metodo di Mohr . . . . .	»	545
col metodo di Vohlard . . . . .	»	546
Ricerca e determinazione dell'acido solforico . . . . .	»	548
Ricerca dell'acido fosforico . . . . .	»	549
Determinazione della sostanze organiche:		
col metodo di Kubel . . . . .	»	551
in presenza di nitriti e sali ferrosi . . . . .	»	552

Ricerca dell'ammoniaca . . . . .	Pag	553
Ricerca dell'acido nitroso . . . . .	»	556
Ricerca e determinazione dell'acido nitrico . . . . .	»	557
Ricerca e determinazione dei metalli nocivi . . . . .	»	561
Determinazione delle sostanze sospese . . . . .	»	562
<i>Sterilizzazione delle acque inquinate:</i>		
con cloruro di calce . . . . .	»	563
con bromo . . . . .	»	563
<i>Norme per giudicare della potabilità di un'acqua</i> . . . . .	»	564

## ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE.

CARNE . . . . .	Pag	566
Alterazioni e sostituzioni . . . . .	»	566
Ricerca del glicogeno . . . . .	»	567
PREPARATI DI CARNE DI MAIALE		
Ricerca del glicogeno . . . . .	»	568
Reazione biologica per la ricerca di altre carni . . . . .	»	569
Ricerca della fecola o delle farine . . . . .	»	570
Ricerca delle materie coloranti rosse . . . . .	»	570
Ricerca del nitro . . . . .	»	570
Determinazione dell'acido borico . . . . .	»	570
Ricerca del bisolfito di soda . . . . .	»	571
PESCI.		
Alterazioni e modo di riconoscerle . . . . .	»	571
Composizione . . . . .	»	572
UOVA.		
Alterazioni e modo di riconoscerle . . . . .	»	572
Composizione . . . . .	»	573
LATTE.		
Origine del latte . . . . .	»	573
Colostro . . . . .	»	574
Proprietà fisiche e chimiche del latte. . . . .	»	575
Densità . . . . .	»	575
Aspetto al microscopio . . . . .	»	575
Separazione della crema . . . . .	»	576
Azione del calore . . . . .	»	576
Reazione . . . . .	»	577
Coagulazione . . . . .	»	577
Influenza dell'alimentazione sulle proprietà e sulla qualità del latte . . . . .	»	577
Composizione del latte . . . . .	»	579
Grasso . . . . .	»	579
Caseina . . . . .	»	580
Lattalbumina . . . . .	»	582
Proteina del siero . . . . .	»	582

Sostanze azotate cristalloidi . . . . .	Pag	582
Zucchero di latte . . . . .	»	582
Amiloide . . . . .	»	583
Acido citrico . . . . .	»	583
Sostanze minerali . . . . .	»	583
<i>Analisi quantitativa</i> . . . . .	»	584
Presenza del campione . . . . .	»	585
Determinazione della densità:		
colla bilancia di Westphal . . . . .	»	585
col lattodensimetro . . . . .	»	587
Determinazione della densità del latte rappreso . . . . .	»	592
Determinazione del grasso:		
per via ottica coll'apparecchio di Feser . . . . .	»	592
per via volumetrica col metodo di:		
Marchand . . . . .	»	593
Adam . . . . .	»	595
Ramshen-Fouard . . . . .	»	596
Gerber . . . . .	»	597
per via ponderale col metodo di Soxlet . . . . .	»	598
Determinazione delle sostanze azotate albuminoidi e non albuminoidi . . . . .	»	599
Determinazione dello zucchero di latte:		
per via polarimetrica . . . . .	»	601
per riduzione dei sali di rame . . . . .	»	601
Determinazione delle sostanze solide . . . . .	»	602
Determinazione delle ceneri . . . . .	»	603
Determinazione dell'acidità . . . . .	»	603
Latte stantivo . . . . .	»	603
Composizione del latte . . . . .	»	604
<i>Sofisticazione del latte:</i>		
Sottrazione della crema . . . . .	»	605
Sottrazione della crema ed aggiunta di acqua . . . . .	»	605
Determinazione della densità del siero di latte . . . . .	»	605
Aggiunta semplice di acqua . . . . .	»	606
Aggiunta di acqua e di sostanze che fanno elevare la den- sità:		
amido . . . . .	»	607
destrina . . . . .	»	607
latte di pecora . . . . .	»	607
Aggiunta di acqua zuccherata . . . . .	»	607
Modo di conoscere se un latte sia stato bollito . . . . .	»	608
Ricerca del bicarbonato di sodio . . . . .	»	608
Ricerca dell'acido salicilico e dell'acido borico . . . . .	»	609
Ricerca della formalina e dell'acqua ossigenata . . . . .	»	610
BURRO . . . . .	»	611
Preparazione e composizione del burro . . . . .	»	612

Presa del campione . . . . .	Pag. 613
Determinazione dell'acqua e del grasso . . . . .	» 613
Determinazione della caseina, dello zucchero di latte, delle ceneri . . . . .	» 613
Determinazione dell'acidità . . . . .	» 613
Sofisticazioni del burro:	
Burro artificiale . . . . .	» 616
Metodi fisici per scoprire la sofisticazione con grassi estranei:	
processo Dronot . . . . .	» 617
esame al microscopio polarizzatore . . . . .	» 617
esame al refrattometro di Zeiss . . . . .	» 618
determinazione della densità a 100° C. . . . .	» 619
Metodi chimici per scoprire l'aggiunta di grassi estranei . . . . .	» 620
Determinazione degli acidi volatili . . . . .	» 620
Ricerca dell'olio di sesamo . . . . .	» 621
Ricerca del burro di cocco . . . . .	» 622
FORMAGGIO:	
Preparazione del formaggio . . . . .	» 622
Prelevamento del campione . . . . .	» 624
Determinazione della umidità . . . . .	» 624
Determinazione delle ceneri, del cloruro di sodio e delle so- stanze azotate albuminoidi . . . . .	» 625
Composizione media di alcuni tipi di formaggio . . . . .	» 625
Determinazione del grasso e dell'acidità . . . . .	» 626
Sofisticazioni con sostanze amidacee, minerali e con grassi estranei . . . . .	» 626
Ricerca delle materie coloranti: dimetilamidobenzolo ed orleans . . . . .	» 627

## ALIMENTI DI ORIGINE VEGETALE

CEREALI - FRUMENTO . . . . .	Pag. 628
Composizione del seme . . . . .	» 628
Sostanze azotate . . . . .	» 629
Amido . . . . .	» 630
Saccarosio, glucosio e destrina . . . . .	» 631
Cellulosa . . . . .	» 632
Grassi e sostanze minerali . . . . .	» 633
Composizione media del seme del frumento . . . . .	» 634
Segale . . . . .	» 634
Orzo ed avena . . . . .	» 635
Riso e granturco . . . . .	» 636
Composizione media del seme del granturco . . . . .	» 637
Utilizzazione dei cereali per l'alimentazione umana . . . . .	» 638
Macinazione . . . . .	» 639
Macine e macinazione alta . . . . .	» 640
Macinazione bassa, molini americani ed a cilindri . . . . .	» 641

Buratti . . . . .	Pag	613
Decorticazione . . . . .	»	613
Macinazione del granturco . . . . .	»	611
Classificazione delle farine . . . . .	»	645
Analisi delle farine . . . . .	»	616
Determinazione della umidità e delle sostanze minerali . . . . .	»	646
Determinazione dell'acidità . . . . .	»	616
Determinazione delle sostanze azotate, del grasso e della cel- lulosa . . . . .	»	617
Determinazione dell'amido . . . . .	»	618
Determinazione del glutine . . . . .	»	618
Valutazione della panificabilità delle farine . . . . .	»	649
Composizione delle farine di vari cereali . . . . .	»	650
Sofisticazioni delle farine . . . . .	»	651
Umidità, sostanze minerali, farine di legno . . . . .	»	652
Allume, solfato di rame, solfato di zinco . . . . .	»	651
Farine di leguminose . . . . .	»	651
Alterazioni delle farine:		
ammuffimento . . . . .	»	651
ammuffimento del granturco o della farina e ricerca del penicillo tossico . . . . .	»	655
ricerca del loglio, dell'agrostemma e della segala cornuta . . . . .	»	656
Composizione delle farine di leguminose . . . . .	»	657
PANE . . . . .	»	657
Lievitazione . . . . .	»	658
Diverse qualità di pane . . . . .	»	659
Analisi del pane . . . . .	»	660
Determinazione dell'acqua e di altre sostanze . . . . .	»	660
Composizione di alcune qualità di pane . . . . .	»	661
Sofisticazioni del pane:		
acqua . . . . .	»	661
sostanze minerali, allume, solfato di rame e solfato di zinco . . . . .	»	662
Alterazioni del pane . . . . .	»	662
PASTE DA MINESTRA:		
Preparazione . . . . .	»	663
Analisi delle paste . . . . .	»	666
Sofisticazioni ed alterazioni delle paste . . . . .	»	666
Materie coloranti . . . . .	»	667
Ricerca del giallo di Martius . . . . .	»	668
Ricerca del giallo naftolsolfonico, del giallo auranzia, del giallo Vittoria, del giallo metanile . . . . .	»	669
Ricerca dell'acido picrico, dello zafferano e del giallo d'uovo . . . . .	»	670
PASTE ALL'UOVO . . . . .	»	670
Materie coloranti aggiunte . . . . .	»	671
Determinazione dell'acido lecitinfosforico e del numero delle nova nella pasta . . . . .	»	671

OLIO DI OLIVA . . . . .	Pag. 673
Composizione di alcuni oli . . . . .	» 674
Sofisticazione con oli di semi . . . . .	» 674
Reazione di Heydenreich . . . . .	» 674
Reazione di Hauehecorne . . . . .	» 675
Reazione di Halphen per l'olio di cotone . . . . .	» 675
Reazione di Boudin per l'olio di sesamo . . . . .	» 675
Reazione per l'olio di arachide . . . . .	» 675
Determinazione del numero di jodio . . . . .	» 676
Ricerca degli oli minerali . . . . .	» 677
Alterazioni dell'olio di oliva . . . . .	» 677
CONSERVE ALIMENTARI:	
Ricerca dei metalli tossici . . . . .	» 678
Ricerca delle sostanze antisettiche . . . . .	» 679

## BEVANDE ALCOOLICHE.

VINO. . . . .	Pag. 680
Composizione del mosto . . . . .	» 680
Fermentazione del mosto ed effetti chimici della fermentazione . . . . .	» 681
Invecchiamento del vino . . . . .	» 682
Correzione dei mosti:	
per aggiunta di zucchero . . . . .	» 682
secondo Chaptal . . . . .	» 684
secondo Gall . . . . .	» 685
Composizione del vino . . . . .	» 686
Analisi del vino:	
Presenza del campione . . . . .	» 687
Determinazione del peso specifico . . . . .	» 687
Determinazione dell'alcool:	
per distillazione . . . . .	» 687
coll'ebulliscopio di Malligand . . . . .	» 690
Determinazione dell'estratto secco . . . . .	» 694
Determinazione dell'acidità totale, volatile e fissa . . . . .	» 695
Determinazione dell'acido tartarico totale e libero . . . . .	» 697
Determinazione del bitartrato di potassio . . . . .	» 697
Determinazione dell'acido tartarico combinato colle terre . . . . .	» 697
Determinazione degli zuccheri riduttori col metodo Fehling-Soxhlet . . . . .	» 699
Determinazione dello zucchero di canna . . . . .	» 700
Saggio polarimetrico . . . . .	» 700
Determinazione della glicerina e delle ceneri . . . . .	» 701
Sunto della composizione chimica dei vini d'Italia . . . . .	» 702
Sofisticazioni del vino:	
Annacquamento . . . . .	» 704



Materie coloranti estranee nei vini rossi . . . . .	Pag 705
Materie coloranti estranee nei vini bianchi . . . . .	» 708
Zuccheraggio . . . . .	» 709
Ricerca della saccarina . . . . .	» 709
Ricerca della duleina e della sucramina . . . . .	» 710
Ricerca del sale aggiunto, dell'allume e dell'alcool . . . . .	» 711
Determinazione della gessatura . . . . .	» 712
Ricerca dell'acido solforico libero . . . . .	» 713
Ricerca dell'acido salicilico, dell'abristol e dei fluoruri . . . . .	» 713
Ricerca dei metalli tossici . . . . .	» 714
<b>BIRRA</b>	
Preparazione . . . . .	» 714
Analisi della birra:	
Determinazione delle densità, dell'alcool, dell'estratto, delle sostanze azotate, della glicerina . . . . .	» 715
Determinazione delle ceneri e dell'acidità . . . . .	» 716
Composizione della birra . . . . .	» 716
Sofisticazioni della birra . . . . .	» 717
Arsenico . . . . .	» 717
<b>ACETO.</b>	
Preparazione . . . . .	» 717
Analisi dell'aceto . . . . .	» 718
Determinazione dell'acidità totale . . . . .	» 718
Sofisticazione dell'aceto:	
Annacquamento, aggiunta di acidi minerali . . . . .	» 719
Aceto di spirito o essenza d'aceto . . . . .	» 719
Ricerca dei metalli tossici . . . . .	» 719
Malattie dell'aceto . . . . .	» 719
<b>ALCOOL.</b>	
Preparazione . . . . .	» 720
Distillazione e rettificazione . . . . .	» 721
Determinazione delle impurità:	
col metodo Röse . . . . .	» 722
col metodo Girard-Rocques . . . . .	» 725
Ricerca e determinazione delle aldeidi . . . . .	» 726
Ricerca e determinazione del furfurolo . . . . .	» 727
<b>ACQUAVITE E LIQUORI</b>	
Ricerca dell'alcool metilico . . . . .	» 729

OGGETTI D'USO

Solubilità del piombo degli smalti . . . . .	Pag 730
Determinazione del piombo nelle stagnature . . . . .	» 730
Ricerca dell'arsenico nelle stoffe, carte, ecc . . . . .	» 730

## ARIA

Composizione dell'aria . . . . .	Pag	731
Determinazione dell'acido carbonico:		
col metodo di Pettenkofer . . . . .	»	732
col metodo di Wolpert. . . . .	»	733
Ricerca dell'ozono . . . . .	»	734
Determinazione dell'umidità dell'aria . . . . .	»	734
Determinazione dell'umidità degli ambienti abitabili . . . . .	»	736
Prelevamento del campione della malta delle mura . . . . .	»	737
Determinazione della umidità della malta:		
col metodo Markl-De Rossi . . . . .	»	737
col metodo Glässgen . . . . .	»	739
Ricerca dell'ossido di carbonio nell'aria . . . . .	»	740
Ricerca dell'acetilene e dell'idrogeno solforato . . . . .	»	741
Ricerca dei vapori di mercurio . . . . .	»	741
Ricerca del solfuro di carbonio . . . . .	»	742

## SOSTANZE ILLUMINANTI.

## CANDELE STEARICHE:

Saponificazione dei grassi . . . . .	Pag	743
Preparazione della stearina . . . . .	»	743

## CANDELE DI PARAFINA:

Preparazione . . . . .	»	744
------------------------	---	-----

## PETROLIO:

Preparazione e raffinazione . . . . .	»	745
Determinazione dell'inflammabilità del petrolio . . . . .	»	746

## GAS PER ILLUMINAZIONE:

Gas carbone . . . . .	»	749
Composizione . . . . .	»	750
Depurazione fisica . . . . .	»	750
Depurazione chimica . . . . .	»	751
Ricerca del solfuro di carbonio . . . . .	»	752
Ricerca dell'acido carbonico e dell'idrogeno solforato . . . . .	»	752
Ricerca e determinazione dell'ammoniaca . . . . .	»	752

## ACETILENE:

Preparazione e depurazione . . . . .	»	752
--------------------------------------	---	-----

## GAS ACQUA:

Preparazione e composizione. . . . .	»	754
--------------------------------------	---	-----

## LUCE ELETTRICA:

Produzione. . . . .	»	754
Giudizio igienico delle varie luci . . . . .	»	755

## FOTOMETRIA:

Principi generali. . . . .	»	755
----------------------------	---	-----

Candela normale di Monaco . . . . .	Pag. 756
Candela normale tedesca; inglese; lampada Hefner; lampada Carcel ed Unità di luce Violle . . . . .	» 757
Fotometro di Weber: descrizione, suo impiego per luci semplici e colorate . . . . .	» 758

## IGIENE DELLE CARNI E DEL LATTE.

### IGIENE DELLE CARNI.

CARNI DEGLI ANIMALI DA MACELLO . . . . .	Pag. 765
<i>Macelli</i> . . . . .	» 765
<i>Impianto</i> . . . . .	» 765
<i>Funzionamento</i> . . . . .	» 766
Orario del servizio . . . . .	» 766
Norme per l'accettazione degli animali in vita . . . . .	» 766
Metodi di uccisione . . . . .	» 767
Criteri per la visita e bollatura delle carni . . . . .	» 767
Modi di trasporto e di conservazione delle carni . . . . .	» 767
Norme per il sequestro e la distruzione delle carni e dei visceri malsani . . . . .	» 768
Norme per la lavorazione e sterilizzazione delle carni . . . . .	» 770
Ordine, disciplina, pulizia, ecc. . . . .	» 771
CARNI IMPROPRIE ALL'ALIMENTAZIONE DELL'UOMO.	
Carni magre . . . . .	» 771
Id. di animali nati morti . . . . .	» 773
Id. di animali troppo giovani . . . . .	» 773
Id. di animali maltrattati prima o durante la macellazione . . . . .	» 774
Id. di animali non o male dissanguati . . . . .	» 774
Id. di animali morti accidentalmente . . . . .	» 775
CARNI ALTERATE	
Per influenze atmosferiche . . . . .	» 776
Per larve d'insetti (mosche) . . . . .	» 778
Da medicamenti e veleni . . . . .	» 780
Carni rosse . . . . .	» 782
Carni fosforescenti e luminose . . . . .	» 782
Carni odorose . . . . .	» 783
Carni ammuffite . . . . .	» 783
Carni con fumo di tabacco . . . . .	» 783
CARNI MALATE.	
<i>Malattie infiammatorie</i> . . . . .	» 784
<i>Malattie contagiose</i> . . . . .	» 785
Setticemie . . . . .	» 785
Carbonchio ematico . . . . .	» 786

Carbonchio sintomatico . . . . .	Pag. 787
Rabbia . . . . .	» 787
Morva e farcino . . . . .	» 789
Farcino criptococcico . . . . .	» 789
Farcino bovino . . . . .	» 789
Tubercolosi . . . . .	» 789
Scrofola . . . . .	» 795
Cancro . . . . .	» 795
Vaiuolo . . . . .	» 796
Difterite . . . . .	» 796
Tetano . . . . .	» 797
Corizza gangrenosa dei bovini . . . . .	» 797
Mal rossino dei porci . . . . .	» 797
Setticemia e colera dei suini . . . . .	» 798
Ematuria epizootica o malattia bovina . . . . .	» 798
Tifo bovino . . . . .	» 798
Afta epizootica . . . . .	» 799
Pleuro-polmonite contagiosa . . . . .	» 800
Actinomicosi . . . . .	» 800
<i>Morbi parassitari</i> . . . . .	» 801
Panicatura dei suini . . . . .	» 801
Panicatura dei bovini . . . . .	» 803
Trichina spiralis . . . . .	» 804
Echinococchi . . . . .	» 806
Balbiana gigantea . . . . .	» 607
Psorospermosi o malattia da psorospermi . . . . .	» 807
Pentastoma tenioide . . . . .	» 808
Parasita del Dunker . . . . .	» 808
Distoma della carne . . . . .	» 809
<b>ALTERAZIONI DEI VISCERI ED ORGANI.</b>	
Fegato . . . . .	» 810
Milza . . . . .	» 811
Pancreas . . . . .	» 812
Reni . . . . .	» 812
Capsule surrenali . . . . .	» 812
Stomaci . . . . .	» 813
Intestini . . . . .	» 813
Glandole mesenteriche . . . . .	» 813
Cuore . . . . .	» 813
Polmoni . . . . .	» 814
Cervello e midollo spinale . . . . .	» 814
Timo . . . . .	» 815
Diaframma . . . . .	» 815
Testicoli e mammelle . . . . .	» 815
Utero . . . . .	» 816
Ovaie . . . . .	» 816

Lingua . . . . .	Pag. 816
Sangue . . . . .	» 817
CARNI DEGLI ANIMALI DA CORTILE E SELVAGGINA . . . . .	» 817
CARNI DEI PESCI . . . . .	» 821
CARNI SALATE O COMUNQUE PREPARATE . . . . .	» 823

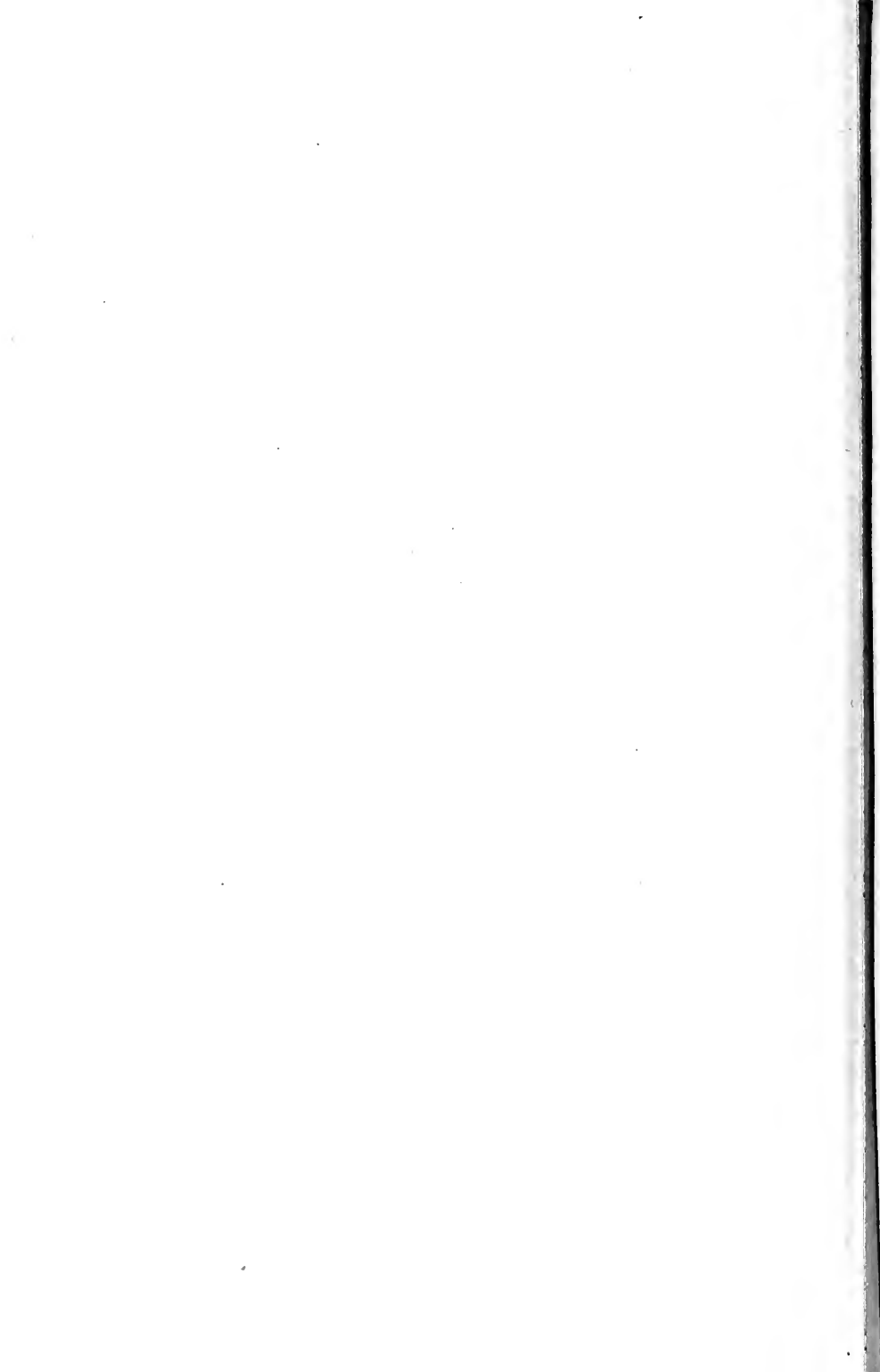
## IGIENE DEL LATTE.

GENERALITÀ . . . . .	Pag. 825
CAUSE CHE FANNO VARIARE LA QUALITÀ E LA QUANTITÀ DEL LATTE. »	827
Igiene della stalla . . . . .	» 827
Alimentazione . . . . .	» 829
Fermenti solubili . . . . .	» 831
IGIENE DELLE VACCHERIE E LATTERIE . . . . .	» 833
Pulizia del personale . . . . .	» 835
Id. delle vacche . . . . .	» 835
Mungitura . . . . .	» 835
Pulizia dei recipienti . . . . .	» 836
Filtrazione . . . . .	» 837
Refrigerazione . . . . .	» 837
Spacci o latterie . . . . .	» 838
LATTERIE SOCIALI . . . . .	» 838
CONSERVAZIONE DEL LATTE . . . . .	» 841
Riscaldamento e bollitura del latte . . . . .	» 842
Metodo di Forster . . . . .	» 842
Pasteurizzazione . . . . .	» 843
Sterilizzazione . . . . .	» 843
Ossigenazione . . . . .	» 844
Latte Gaertner od umanizzato . . . . .	» 844
Condensazione. . . . .	» 844
Congelazione . . . . .	» 845
Farine lattee . . . . .	» 845
LATTICINI E LORO ISPEZIONE . . . . .	» 845



PROF. O. CASAGRANDI

MICROSCOPIA APPLICATA ALL'IGIENE





---

# MICROSCOPIA APPLICATA ALL'IGIENE

## MICROSCOPIO.

Lo strumento necessario per le ricerche di pertinenza dell'igiene è il microscopio così detto composto.

Esso consta di due parti: la parte meccanica e la parte ottica.

LA PARTE MECCANICA costituita dal così detto stativo si compone di una *base* generalmente a ferro di cavallo, la quale sostiene una *colonna* verticale. Verso la metà dell'altezza di questa colonna è applicata ad angolo retto una piastra metallica forata nel centro, amerita ovvero coperta di vetro e più generalmente, di ebanite, di forma quadrata, rettangolare o rotonda. Da questa piastra detta *tavolino portoggetti*, la colonna viene divisa in due parti, le quali nei microscopi grandi sono articolate fra di loro. Nei microscopi così detti inglesi, nei quali è stata molto studiata la parte meccanica, la base è costituita da un trepiedi sul quale si articola la porzione del microscopio portante il tavolo portoggetti e il tubo portalenti.

La porzione superiore della colonna porta un braccio al quale è annessa o una guaina entro cui scorre a dolce sfregamento il tubo portalenti, ovvero una doccia entro cui scorre un'asta dentata che è annessa al tubo portalenti e che viene con questa alzata od abbassata per mezzo di apposita ruota dentata. Essa è altresì mobile dall'alto al basso per mezzo di una vite micrometrica che ordinariamente si trova all'estremo della colonna ma che può trovarsi anche immediatamente al di sotto del tavolino portoggetti o lateralmente (nuovi modelli di Zeiss).

Sotto al tavolino portoggetti si trova poi il così detto *diaframma a iride* il quale nei microscopi di recente costruzione sostituisce il vecchio *portadiaframmi* nel quale si possono collocare delle piastri-

forate (diaframmi piani) ovvero i così detti diaframmi cilindrici, di cui Koritska ne costruisce uno ad iride. Vi sono del resto anche modelli nei quali questi congegni sono sostituiti da un'unica piastra girevole a fori di varia grandezza che possono farsi corrispondere a seconda dei bisogni al foro che si trova nel tavolino portoggetti: sono specialmente quelli nei quali non è applicabile il così detto condensatore della luce di Abbe, come i piccoli modelli di Hartnaek.

LA PARTE OTTICA si compone dei sistemi di lenti per lo ingrandimento e dell'apparecchio di illuminazione.

I sistemi di lenti per lo ingrandimento sono due: l'*obbiettivo* e l'*oculare*, i quali sono tenuti assieme da un tubo che oggidi si fa di due pezzi (di tre solo nel microscopio tascabile di Beale) di cui il superiore entra a dolce sfregamento nell'inferiore. Nel segmento superiore si trova una graduazione che permette di regolare a volontà, entro certi limiti, la distanza fra l'obbiettivo e l'oculare. Questo tubo è generalmente unico e dritto, ma può essere doppio come nei microscopi binoculari di Wenham e piegato ad angolo retto, come nei microscopi di Chevalier ed Amici. Però tale disposizione, necessitando l'interposizione di prismi, non è favorevole alla chiarezza delle immagini, specialmente quando si adoperano obbiettivi forti: quindi non è stata adottata. Recentemente solo, lo Zeiss ha costruito dei veri e propri microscopi binoculari a distanza focale forte e a grande potere di penetrazione, i quali fanno vedere gli oggetti come in rilievo: ma gli ingrandimenti che danno sono ancora troppo piccoli.

L'*obbiettivo* consta di un sistema di lenti di cui l'inferiore prende il nome di lente frontale e la superiore di lente emergente, il quale sistema dà un'immagine rovesciata ingrandita e reale di un oggetto posto un poco al di là del suo fuoco, cioè fra la semplice e la doppia distanza focale. Generalmente ogni sistema obbiettivo è formato da tre doppiette ossia dall'unione di due lentine l'una piano-concava e l'altra biconvessa, tenute assieme da balsamo del Canada, delle quali lenti quella piano-concava guarda in basso con la sua parte piana. E dico generalmente, perchè nei sistemi obbiettivi ad immersione vi sono doppiette e triplete in numero diverso.

Gli obbiettivi *comuni* diconsi *acromatici* o *aplanatici* perchè mediante opportune combinazioni cercano di correggere la aberrazione di refrangibilità e quella di sfericità.

Infatti per correggere il cromatismo nelle doppiette la lente piano-concava è di vetro *crown* mentre la biconvessa è di *flint*: però

non si tratta mai di una correzione completa, giacchè non viene realmente corretta che l'aberrazione dei due ultimi colori dello spettro, il violetto e il rosso, non quelle degli intermedi. Così per correggere il vizio di sfericità oltre a studiare bene le curvature delle singole lenti, cercando di adoperare lenti poco convesse, vengono interposti diaframmi tra le diverse doppiette o triplette.

Gli obbiettivi che diconsi *apocromatici* sono quelli prima costruiti dallo Zeiss con vetri speciali di borato e fosfato, i quali hanno un forte grado di aplanatismo e aeromasia, e permettono quindi anche l'uso di oculari molto potenti. Questi obbiettivi hanno un forte angolo di apertura numerica e una forte distanza focale: e permettendo di osservare a forti ingrandimenti immagini ben chiare degli oggetti, almeno nell'asse ottico del microscopio, servono ottimamente per rilevarne i particolari più delicati.

Finalmente vi sono anche gli obbiettivi *pantacromatici* (Leitz), *semiapocromatici* (Koritska), rappresentati da sistemi di lenti che per lo impiego nella loro fabbrica di vetri speciali sono più corretti degli aeromatici per ciò che si riferisce al vizio di cromaticità e sfericità: ma non raggiungono però la correzione degli apocromatici.

Con questi obbiettivi i fabbricanti hanno tentato di fornire dei sistemi di lenti, non così alterabili come quelli degli apocromatici, ai quali fosse possibile applicare i compensatori ottenendo anche, con ingrandimenti discretamente forti, immagini chiare. Il semiapocromatico  $\frac{1}{13}$  di Koritska per es., per usare le parole del Busealioni, unisce ad una grande luminosità e chiarezza di immagine, propria degli apocromatici, il pregio dell'inalterabilità.

Gli obbiettivi distinguonsi poi in quelli a *secco*, quando tra la lente frontale e il vetrino coprogetti rimane uno strato di aria, e a *immersione* se tra la lente frontale e il vetrino coprogetti viene posto un liquido il cui indice di rifrazione avvicinandosi a quello del vetro, permette che i raggi emergenti dall'oggetto sieno meno deviati. Come liquido venne dapprima usata l'acqua, la quale ora serve soltanto in casi speciali per es., per l'osservazione di organismi viventi tenuti in camere umide con obbiettivi a grande distanza focale (D\* Zeiss). Oggi invece usasi l'olio di cedro, il cui indice di rifrazione (1,515) si avvicina molto di più a quello del vetro (1,555). Soltanto con un obbiettivo speciale costruito dallo Zeiss, si può sostituire all'olio la monobromonaftalina, che ha lo stesso indice di rifrazione del vetro della lente: occorre però in questo caso che gli oggetti vengano inclusi in

liquidi speciali (ioduro di *Hg.* ecc.) e che i vetri coproggetti siano di un determinato spessore e di flint.

Esistono anche i così detti *obbiettivi a correzione*, nei quali, mediante un collare graduato, attorno al tubo portadoppiette, girabile attorno al proprio asse, la lente frontale dell'obbiettivo può avvicinarsi od allontanarsi dalle altre, in modo da poter raccogliere quei raggi luminosi che per il diverso spessore dei vetrini coproggetti andrebbero dispersi: queste lenti però sono poco adoperate perchè i fabbricanti hanno corretto i loro sistemi obbiettivali per i vetrini coproggetti più in uso, aventi uno spessore di mm. 0,16, nonchè per una determinata lunghezza di tubo, generalmente 15-17 cm.

Gli obbiettivi si indicano variamente a seconda dei diversi fabbricanti. Gli acromatici a secco con numeri o lettere progressive indicanti via via un grado di ingrandimento maggiore, senza però stabilirlo, e quelli ad immersione indicando in frazione di pollice inglese la loro distanza focale equivalente ossia la distanza focale di una lente semplice che produrrebbe lo stesso ingrandimento. Gli apocromatici vengono indicati con la loro distanza focale equivalente, espressa in frazioni di millimetri e con l'angolo di apertura numerica, col quale si intende la così detta « superficie lenticolare utile » ossia quel fascio angolare di luce, avente il vertice nell'oggetto, e che può essere utilizzato dalla lente per formare l'immagine. Quanto più grande è l'angolo di apertura che ha un sistema obbiettivo, tanto maggiore è quindi la quantità dei raggi luminosi utilizzabili dall'oggetto ossia quel che si chiama il potere di risoluzione delle lenti e quanto più grande la distanza focale tanto più commendabile è ancora l'obbiettivo. Però siccome un grande angolo di apertura porta con sè un minore potere di definizione così i migliori obbiettivi apocromatici non dispongono che di una distanza focale di 2 mm. con 1,40 e tutt'al più 1,50 di apertura numerica.

L'*oculare* (e per oculare s'intendono generalmente i così detti *oculari ordinarii* o di *Huygens* o di *Campani*) è costituito da un sistema di lenti che dà una immagine virtuale dritta e ingrandita di un oggetto — rappresentato dalla immagine data dall'obbiettivo — il quale si trova fra il suo fuoco e la lente. Esso spiega la sua massima potenza a tubo alzato nei microscopi ordinarii tra 15-17 cm.

L'oculare *Huygens* è formato da due lenti piano-convesse, con la faccia piana rivolta in alto; di queste lenti la inferiore prende il nome di *lente collettrice* o di *campo*, la superiore di *lente oculare*; quest'ultima ha una distanza focale doppia della precedente: esse

sono disposte in modo che il fuoco delle due lenti cada nello stesso punto.

Si conoscono poi oculari nei quali una delle lenti cerca di correggere il vizio di cromaticità dell'altra e sono questi i così detti *oculari aplanatici od ortoscopici*, ed altri che a mezzo dell'interposizione di prismi, riducono dritta l'immagine fornita rovesciata dall'obbiettivo. Ma essi non sono affatto in uso, come non è in uso l'*oculare di Ramsden* nel quale l'immagine cade appena al di sotto della lente colletrice, per cui una piccola scalfittura, uno sporcio qualsiasi su questa lente, diventa visibilissimo.

Sono invece oramai molto adoperati i così detti *oculari compensatori* costruiti la prima volta dallo Zeiss, per gli obbiettivi apocromatici. Questi oculari devono il loro nome al fatto che compensano mediante una correzione in senso opposto la differenza di ingrandimento per i diversi colori che hanno tutti i forti obbiettivi, sicchè col loro uso si toglie la differenza cromatica dell'ingrandimento per la zona periferica del campo. Essi cioè hanno un potere di ingrandimento maggiore per il rosso che per il bleu, mentre gli obbiettivi apocromatici ingrandiscono più fortemente il bleu. Accoppiando i due sistemi l'immagine appare sino all'orlo del tutto incolora. In questi oculari la disposizione delle lenti a volte è come negli Huygens, altre volte come nei Ramsden: in ogni caso però sono fatti in modo che il punto focale inferiore occupa in tutti la stessa posizione nel tubo del microscopio, per cui si può cambiare oculare durante qualunque osservazione, senza spostare il tubo del microscopio. Va anche notato che si possono adoperare con gli obbiettivi acromatici, pantacromatici e semiapocromatici, almeno con quelli che non danno fortissimi ingrandimenti.

Gli oculari Huygens vengono indicati con cifre arabe o romane progressive, le quali stanno ad indicare una potenza di ingrandimento sempre maggiore senza però stabilirla. Gli oculari apocromatici sono indicati con cifre, ognuna delle quali indica il numero delle volte che l'oculare ingrandisce l'immagine data dall'obbiettivo.

L'*apparecchio di illuminazione* si trova tra il piede e il tavolino portoggetti. Nei microscopi ordinari, per i quali non necessita che l'uso di lenti a secco a mediocre ingrandimento, è rappresentato dal solo specchio che è piano da un lato e dall'altro concavo: il primo adoperasi quando la sorgente luminosa è lontana, il secondo quando è vicina o quando, pur essendo lontana, c'è bisogno di maggior chiarezza nel campo visivo.

Quando si usano lenti ad immersione od anche lenti a secco che danno forti ingrandimenti, si intercala tra il portadiaframma

e il tavolino portoggetti, il così detto condensatore della luce, che per lo più è quello di Abbe, perchè realmente è il migliore. Esso è costituito da 2-3 grandi lenti piano-convexe con la parte piana rivolta in alto, che rifrangono la luce trasmessa dallo specchio nel fuoco che trovasi pressochè nel piano del preparato. Siccome poi il sistema di lenti del condensatore ha un grande angolo di apertura il campo illuminato è ampio. Nei grandi microscopi questo apparecchio è mobile dall'alto al basso per mezzo di apposito movimento a cremaliera e ciò serve a portare esattamente il suo punto focale nel piano del preparato, a seconda dello spessore del vetro portoggetti, oppure ad allontanarlo in maniera da diminuire l'illuminazione del preparato. Adoperando il condensatore la superficie riflettente dello specchio è quella che apporta un angolo di apertura maggiore, cioè la piana: però questo sempre nel caso che la sorgente luminosa sia lontana.

Nella pratica ad ogni modo non si segue questa regola, anzi la generalità si abita ad usare in ogni caso lo specchio concavo. Del resto, questa è una necessità il più delle volte, perchè lo specchio piano riflette l'intelaiatura delle finestre che compaiono nel campo microscopico come grandi linee nere perturbatrici.

In alcuni microscopi si possono far eseguire al condensatore dei movimenti laterali, che servono a centrarlo; anzi questo movimento non manca quasi mai nei microscopi inglesi; ma per gli usi comuni questo movimento è inutile, salvo che non si tratti di microscopi microfotografici.

**INGRANDIMENTO E VALORE OTTICO DEI MICROSCOPI.** — I fabbricanti aggiungono ai microscopi una tabella per gli ingrandimenti coi vari sistemi di lenti a tubo alzato (generalmente a 160 mm.). Si può però determinare il numero delle volte che il sistema oculo-obiettivo ingrandisce un oggetto quando si conosce la distanza focale della lente e il numero delle volte che l'oculare ingrandisce l'immagine data dall'obiettivo. All'nopo si divide 250 (costante che rappresenta la distanza visiva massima a cui si forma l'immagine più netta dell'oggetto) per la distanza focale della lente obbiettivo espressa in mm. ed il quoziente che rappresenta l'ingrandimento del sistema obbiettivo, si moltiplica per il numero segnato sull'oculare. Si comprende come tale ricerca sia possibile soltanto quando vengano adoperati obbiettivi apoeromatici od anche semi e pantaeromatici in cui sia indicata la distanza focale equivalente in mm.

Qualora poi si voglia conoscere l'ingrandimento di un dato sistema oculo-obiettivo e si posseda un micrometro obbiettivo,

si può giungervi servendosi di apposito apparecchio, detto *camera lucida*, il quale serve per disegnare gli oggetti che si guardano al microscopio. A tal uopo, si mette a fuoco il micrometro obbiettivo e si applica all'oculare la camera lucida, poi si disegnano le divisioni che si vedono nel campo microscopico sulla carta e si misura la distanza tra una divisione e l'altra. Se per es. ogni divisione misura 10 mm. vuol dire che ogni divisione del micrometro obbiettivo che è di  $\frac{1}{100}$  di mm. è stata ingrandita  $1 \times 10 \times 100$  cioè 1000 volte.

In alcuni microscopi e precisamente in quelli di Zeiss è ancora possibile applicare al tavolino portoggetti il così detto *micrometro a vite*, col quale senza bisogno di altri apparecchi si può conoscere la grandezza dell'oggetto che si osserva: lo strumento però è alquanto complicato e molto costoso.

Oltre l'ingrandimento è utile conoscere nella pratica il così detto *valore ottico* del microscopio, mediante il quale si può sapere fino a che limite di grandezza con un dato sistema oculo-obbiettivo si possano distinguere gli oggetti l'uno d'altro in un dato campo microscopico. Il procedimento più alla mano è quello vecchio di Harting. Si prendè una reticella metallica a maglie strette, si attacca in un modo qualunque al portadiaframmi, si mette sul tavolino portoggetti un preparato di acqua gommata sbattuta in maniera da contenere molte bollicine di aria e si mette a fuoco una bollicina. In essa si osserverà subito l'immagine di un quadratello della reticella composto di un certo numero di maglie. Si applica allora il micrometro oculare, e naturalmente, si comincia ad abbassare il portadiaframmi e quindi la reticella sino a che i fili delle reticelle siano distinguibili nella bolla di aria. Si calcola allora, conoscendo il valore micrometrico dell'obbiettivo, il valore apparente di tutto il quadratello. Se per es., misurerà 1  $\mu$  di lato e conterrà 10 maglie, ogni maglia verrà ad avere  $\frac{1}{10}$  di  $\mu$  di lato, e ciò vorrà dire che il sistema di lenti potrà far vedere distinti gli oggetti sinchè distano fra di loro  $\frac{1}{10}$  di micron.

MISURAZIONE DEGLI OGGETTI CHE SI OSSERVANO AL MICROSCOPIO. — Gli oggetti che si osservano al microscopio si misurano mediante il cosiddetto micrometro oculare, rappresentato da una lastrina di vetro in cui 10 mm. sono divisi in 100 parti. Questa lastrina si colloca sopra o sotto il diaframma che sta tra la lente oculare e la lente collettiva, ossia nel posto preciso dove si forma l'immagine reale, con la parte segnata rivolta in basso e la si mette a fuoco alzando o abbassando opportunamente la lente oculare.

Posto poi a fuoco l'oggetto di cui si vogliono conoscere le dimensioni, si conta il numero delle divisioni del micrometro oculare che comprendono l'immagine microscopica e si moltiplicano queste ultime per il valore delle divisioni micrometriche con quel dato obiettivo, valore che trovasi segnato nella tavola degli ingrandimenti. Il prodotto rappresenta le dimensioni dell'oggetto in *micron* o  $\mu$  o millesimi di millimetro.

Faccio notare che in quasi tutti i trattati il *micron* è fatto sinonimo di micromillimetro: questo però è un errore. Il micromillimetro non è infatti la millesima parte del mm. ossia il micron, ma la milionesima e si indica con  $\mu\mu$ .

Per avere una cifra esatta occorre però che il micrometro oculare venga usato sempre collo stesso oculare, generalmente il 2 Huygens o il 4 compensatore, perchè l'ingrandimento che le divisioni del medesimo subiscono per opera della lente oculare non venga a cambiare. Di più occorre che il tubo sia alzato (questo come regola generale) a 160 mm. o un po' meno se è applicato il revolver portaobiettivi.

Qualora non si conoscesse il valore micrometrico dell'obiettivo, bisogna fare uso del così detto micrometro-obiettivo, ossia di una lastrina di vetro in cui un mm. è diviso in 100 parti ed ogni parte per conseguenza corrisponde a 10  $\mu$ . Questa lastrina si sostituisce al preparato microscopico e tenendo in sito il micrometro oculare, si conta quante divisioni di quest'ultimo vengano comprese in una divisione del micrometro obiettivo: e allora, se p. es. 5 divisioni del micrometro oculare sono comprese in una del micrometro-obiettivo, avremo che ciascuna divisione del micrometro-oculare avrà il valore di  $10:5 = 2 \mu$ .

Avendo il solo micrometro obiettivo si può, ponendo il materiale da esaminare sul medesimo e facendolo servire da lastrina portoggetti, calcolarne direttamente le dimensioni; però ciò non è possibile fare con oggetti già montati in preparazioni fisse.

USO DEL MICROSCOPIO. — Nell'adoperare il microscopio bisogna avere delle cure speciali:

1° nella messa a fuoco:

a) fare scendere il tubo porta-lenti più presso che sia possibile al fuoco per gli obiettivi a secco e per gli obiettivi ad immersione sino ad immergere nella goccia di liquido la lente frontale;

b) aggiustare lo specchio ed i diaframmi opportunamente prima di far uso della vite micrometrica e usare lo specchio concavo quando la sorgente luminosa è vicina ed aprire o togliere il diaframma, ciò che è necessario per le preparazioni batteriologiche colorate; usare lo specchio piano



quando si abbia la sorgente luminosa lontana e diaframmi con fori più o meno stretti, ciò che è necessario per le preparazioni incolori o poco colorate;

c) muovere il preparato col pollice e l'indice della mano sinistra: quando passa qualche ombra, far corrispondere questa al centro del campo, abbassare ancora un poco il tubo e finire di mettere a fuoco muovendo in un senso o nell'altro la vite micrometrica, evitando di farle eseguire molti giri:

## 2° nell'adoperarlo:

a) guardare con un occhio nel sistema oculare, cercando di abituarsi a tenere aperto l'altro occhio; muovere con il pollice e l'indice della mano destra in un senso e nell'altro la vite micrometrica, per osservare tutti i piani del preparato, badando di fare movimenti appena percettibili quando si adoperano forti ingrandimenti, più ampi quando si adoperino ingrandimenti medi;

b) aggiustare durante l'osservazione convenientemente l'illuminazione del campo visivo, sostituendo ove occorra: lo specchio piano al concavo; la luce obliqua, alla luce diretta, ciò che si ottiene spostando lateralmente all'asse ottico del microscopio lo specchio e in quella posizione raccogliendo i raggi dalla sorgente luminosa e dirigendoli nel preparato; il campo chiaro col campo oscuro ciò che si ottiene ponendo sul portadiaframmi un anello metallico con la parte centrale diaframmata, in maniera da intercettare i raggi luminosi centrali riflessi dallo specchio coll'interposizione di questo disco; il campo microscopico appare oscuro e se vi sono corpiccioli, che a luce diretta si erano o non visti o appena intravisti, si osservano bene chiari in campo oscuro;

c) sapere al momento opportuno, sempre che occorra, far agire dei reagenti sotto il campo microscopico ponendo una goccia di liquido lateralmente al vetrino coprogetti e aspirando dall'altra con carta bibula: e, durante queste ricerche microchimiche badar bene di non sporcare la lente frontale dell'obbiettivo, inconveniente che ove si avverasse bisognerebbe cercare di rimediare lavando subito l'obbiettivo con acqua e poi asciugandolo. Ricordare che nella composizione del flint c'è il piombo, che i vapori di  $NH_3$  e gli alcali a lungo andare intaccano le lenti e così i vapori degli acidi nitrico, cloridrico e solforico specialmente. Se si dovessero fare a lungo ricerche del genere, sarebbe consigliabile adoperare stativi appositi, i così detti stativi da microchimica, nei quali l'obbiettivo sta al disotto del tavolino portaoggetti con la lente frontale naturalmente rivolta all'insù e il tubo portaoculare è fissato obliquamente al piede del microscopio: tra la base dell'obbiettivo e il punto in cui è fissato l'oculare evvi poi un prisma perchè l'immagine data dall'obbiettivo giunga all'oculare; lo specchio si trova in alto al disopra del tavolino sostenuto da apposita asta;

## 3° nel riporlo:

a) alzare il tubo del microscopio, poi togliere il preparato, sempre dal davanti;

b) pulire la lente frontale in senso circolare con pezzuola di tela finissima, ripetutamente lavata, asciutta: se la lente è sporca pulirla con la pezzuola bagnata con benzina o xilolo e poi di nuovo con la pezzuola asciutta;

c) non togliere l'oculare, lasciando a posto l'obbiettivo, ma togliere prima questo, poi quello;

d) se le lenti sono sporche, girarle in senso circolare, tenendo l'occhio applicato al microscopio per stabilire se siano quelle dell'obbiettivo o quelle dell'oculare e pulirle avendo cura di rivolgere sempre in basso la parte del tubo rimasta aperta evitando però di svitare nei suoi singoli pezzi l'obbiettivo: qualora questo fosse necessario, è meglio inviare l'obbiettivo alla fabbrica;

e) tenere lontano il microscopio dalla luce solare e da sorgenti calorifiche;

f) coprirlo con una campana di vetro o con scatola di cartone;

g) dovendolo trasportare, prenderlo per il piede con una mano e con l'altra per la colonna.

SCelta DEL MICROSCOPIO. — Varie sono le fabbriche dei microscopi in Germania, in Francia, in Inghilterra. In Italia evvi quella del Koritska raccomandabile sotto tutti i punti di vista.

Per gli scopi a cui deve servire in batteriologia e in microscopia, qualunque sia la fabbrica a cui ci si rivolga, il microscopio deve essere fornito oltre che di lenti a secco, di una lente a immersione e quindi anche dello apparecchio di Abbe.

Fattane poi la scelta, è sempre bene osservare lo stato delle lenti.

Ciò in altri termini significa dare il proprio giudizio sui *poteri di definizione, di penetrazione, di aeromatismo, di aplanasia, ecc. ecc.* del sistema obbiettivo, del *valore ottico* in genere di tutto il sistema oculo-obbiettivo, e dello *stato di costruzione* dello stativo. Senza voler far torto a nessuno, è sempre consigliabile per avere un giudizio esatto rivolgersi a persona che abbia lavorato ed osservato con molte lenti diverse e dello stesso fabbricante e di altre fabbriche, e di non rivolgersi mai, a chi, anche provetto in ricerche microscopiche si è servito sempre del proprio microscopio.

Il microscopista deve provare gli obbiettivi acromatici con gli oculari Huygens, i semiapocromatici, pantacromatici con gli Huygens e i compensatori, gli apocromatici con i compensatori. E tralasciando di fare ricerche speciali in rapporto all'aeromatismo e all'aplanasia deve arguire lo stato della correzione dell'aberrazione di cromaticità e sfericità dalle prove per riconoscere il potere di definizione e di risoluzione del sistema oculo-obbiettivo.

Il *potere di definizione* consiste «nella proprietà di produrre immagini a contorni netti, ben definiti, distinti, sottili, le quali ri-

traggano dell'eleganza e della finezza delle buone e fresche incisioni e degli stampati con caratteri nuovi su buona carta ». Quando fa difetto questa proprietà si hanno immagini a contorni sbiaditi, larghi, indefiniti, sfumati, paragonabili a quelli delle cattive incisioni, stanche, ed alle impressioni che si hanno dei caratteri vecchi sfumati o logorati dall'uso.

Per saggiare bene il potere di definizione non si possono adoperare che le lastre di prova di Abbe, cioè, dischetti di argento fenestrati fissati a vetrini portoggetti e che si mettono a fuoco dopo avere messo al posto del diaframma un disco con due fori uno centrale e uno laterale, opportunamente fatti, dai quali pervengono due coni luminosi nel campo microscopico. Se l'obbiettivo è perfettamente corretto ad una data posizione del tubo le due immagini dei due dischi fenestrati, corrispondenti ai due coni di luce, devono coincidere, e le strisce d'argento devono presentare bordi marcati incolori. Se la correzione è relativa come negli obbiettivi aeromatici occorre contentarsi di vedere gli orli bleu o gialli: se sono violetti o rosa si possono tollerare a patto che le due immagini coincidano esattamente. Negli obbiettivi apocromatici va poi notato che il potere di definizione non si può estendere a tutto il campo: le due immagini cioè non coincidono e ciò si deve al grande angolo di apertura che posseggono le lenti per il quale si ha costantemente il così detto incurvamento della superficie dell'immagine.

Questo fatto non si deve notare negli obbiettivi meno potenti dove in tutto il campo visivo, sino al margine, l'immagine deve essere appianata. Per tale ragione saggiando con le lastre di Abbe gli obbiettivi apocromatici, i bordi delle strisce d'argento appaiono incolori soltanto nel centro del campo visivo.

Il *potere risolvete o penetrante* consiste nella proprietà di mettere in evidenza i più minuti particolari di struttura tanto nella superficie quanto nell'interno degli oggetti esaminati. Va da sé che gli obbiettivi non possono accoppiare un forte potere di definizione con un forte potere di penetrazione perchè ambedue i poteri sono legati alla grandezza dell'angolo di apertura: se è ampio, maggiore è il potere di risoluzione, ciò che è utile nei forti obbiettivi; se è piccolo, maggiore è quello di definizione ciò che è utile nei deboli obbiettivi. Nella pratica il potere risolvete si saggia per mezzo di oggetti di prova, cioè:

a) per le lenti a secco:

— preparati di *hypparchja janira*, in ciascuno degli esemplari della quale si devono vedere delle linee trasversali osservando ad ingrandimento di 60-150 diametri:

— preparati di *pleurosigma angulatum*, nei quali si devono vedere tre sistemi di linee a luce obliqua, osservando all'ingrandimento di 150 o 200 diametri, ed i medesimi a luce centrale, osservando all'ingrandimento maggiore. Sono questi generalmente gli oggetti di prova che forniscono i costruttori. Con maggiore precisione nel pleurosigma le strie longitudinali diventano appariscenti ad illuminazione centrale all'ingrandimento di 150-200 diametri, e le trasversali cominciano a farsi visibili qua e là distintamente a quello di 300 diametri. Sono poi a questo ingrandimento distintissime ovunque adoperando la luce obliqua. Ad ingrandimenti più forti, le linee chiare si vedono in piccoli quadratelli assai distinti, ad angoli più o meno smussati, cosicchè le linee oscure che li delimitano sembrano ingrossate da rigonfiamenti più o meno simmetrici;

b) per le lenti a immersione preparati di *surinella gemma*, in cui si deve vedere una reticella di fine linee trasversali e longitudinali interposte tra altre linee più grosse trasversali che si partono da un'altra longitudinale;

c) sia per le lenti a secco sia per quelle a immersione, preparati di saliva che ognuno può fare lì per lì da sè, come consiglia il Bizzozero: in questi coi piccoli ingrandimenti di 100-120 diametri si devono vedere ben contornate e distinte sia le grandi piastre dell'epitelio boccale, sia le piccole cellule salivari; con forti obbiettivi a secco il movimento danzante dei granuli del loro protoplasma e con gli obbiettivi a immersione le minutissime linee parallele e a decorso più o meno regolare che percorrono le diverse facce delle piastre salivari.

Le combinazioni più utili per lo scopo cui può servire in microscopia e batteriologia, un microscopio, sono, riferendoci ai microscopi della casa Koritska, le seguenti:

I e II	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Oculari Huygens 2 micr. 3-4} \\ \text{Obbiettivi a secco 2-6-8}^* \end{array} \right. \left. \begin{array}{l} \\ \\ \end{array} \right\} \text{L. 287.}$
III	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Obbiettivi a secco 2-6-8; compensatore 6} \\ \text{Obbiettivo a immersione } \frac{1}{15}'' \text{ semiapocromatico} \end{array} \right. \left. \begin{array}{l} \\ \\ \end{array} \right\} \text{L. 337.}$
	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Stativo IV-a con apparecchio Abbe e revolver triplo L. 200.} \\ \text{Oculari Huygens 2 micr. 3-4; compensatori 4-6-8} \\ \text{Obbiettivi a secco 2-4-6-8} \end{array} \right. \left. \begin{array}{l} \\ \\ \end{array} \right\} \text{L. 412.}$
IV	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Obbiettivo a immersione } \frac{1}{15}'' \text{ semiapocromatico} \\ \text{Stativo II apparecchio di Abbe e revolver triplo L. 270 o lo stativo II-a con apparecchio Abbe e revolver triplo L. 290.} \end{array} \right.$

Due parole su queste combinazioni. Per tutte si è cercato di scegliere quegli obbiettivi ed oculari che più si adattano alle ricerche microscopiche e batteriologiche, per avere immagini

chiare ed ingrandimenti sufficienti. Si è preferito nelle combinazioni I e II e nella III, che è la più consigliabile, l'obbiettivo a secco 2 (che serve per la orientazione e per l'esame sintetico dei preparati) e non il 3 o il 4 perchè il 2 ha un campo visivo più grande, e una distanza focale maggiore, ragione per cui può servire per vedere oggetti chiusi in scatole (come le colonie nelle scatole di Petri), mentre col 3 il più delle volte bisogna aprirle. Si è scelto l'obbiettivo 6 e non il 5 perchè ingrandisce un po' di più, dà immagini chiarissime ed è dotato di un discreto potere di risoluzione e di un buon potere di penetrazione con una forte distanza focale, per cui anche corpi piccolissimi già si rendono visibili senza bisogno di maggiori ingrandimenti. Si è scelto l'8\* e non il 9 perchè ha un campo visivo più chiaro, dà immagini ben definite, ha un forte potere risolutivo e dà ingrandimenti più che sufficienti.

Nella combinazione III si è accanto ad  $1/15$ " semiapocromatico posto il compensatore 6 e non il 4 e l'8 forniti dal costruttore, perchè io ritengo che il 4 possa benissimo, atteso il debole ingrandimento che dà, essere sostituito dai comuni oculari Huygens, e l'8 ingrandisca troppo, abituando, chi fa ricerche igieniche di indole pratica, a vedere gli oggetti troppo ingranditi di guisa che quando poi si trova ad osservarli coi comuni ingrandimenti, non ci si raccapizza più.

Del resto chi voglia avere e il 4 e l'8 compensatore ed anche un obbiettivo a secco intermedio tra il 2 e il 6 può riferirsi alla IV combinazione, dove anche gli stativi e specialmente il nuovo II-a, sono di gran lunga preferibili agli altri.

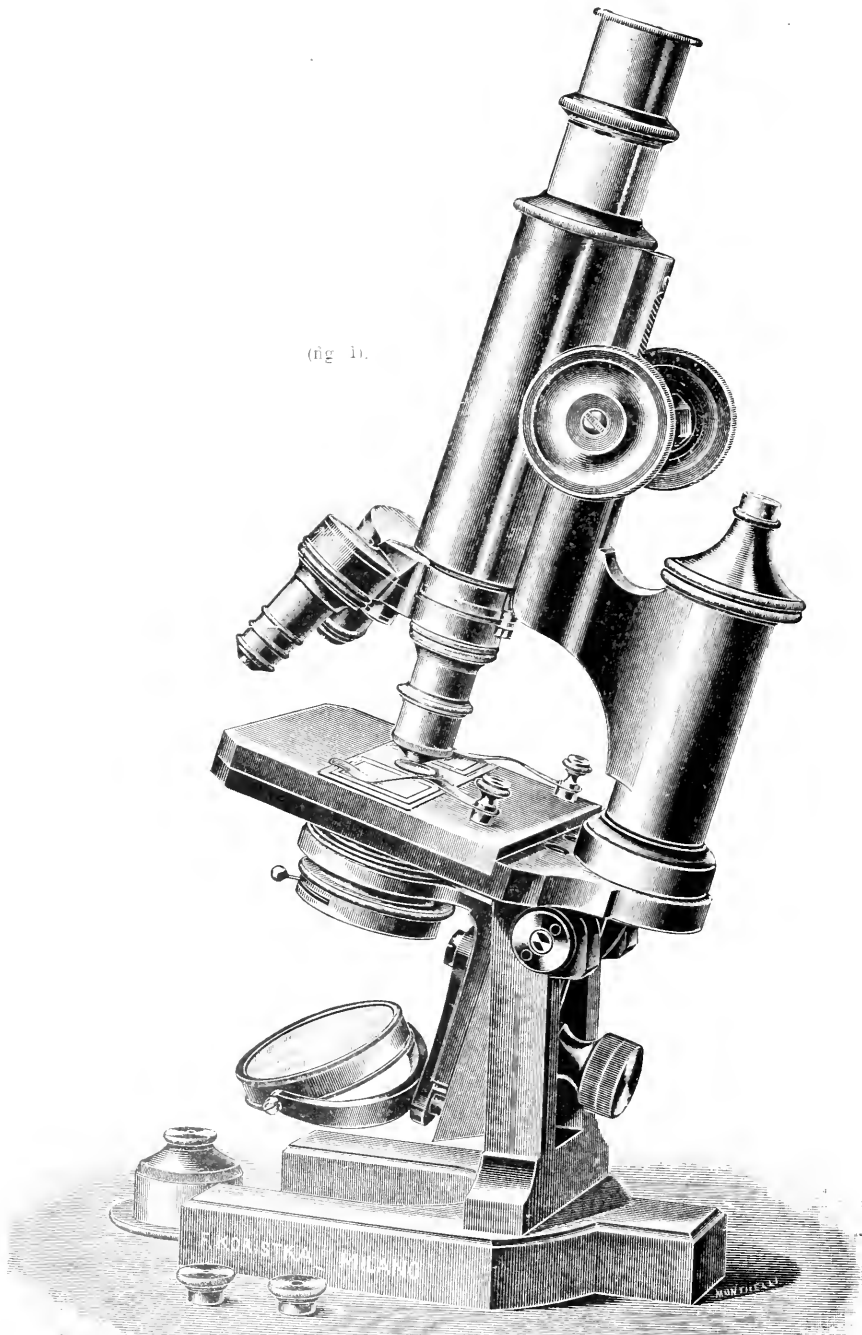
Lo stativo VI è più che sufficiente ai comuni bisogni: però manca del movimento in alto e in basso del condensatore ed ha una colonna meno robusta.

Lo stativo IV-a (fig. 1) offre tutte le comodità dei grandi stativi, è snodabile, ha la colonna solida, può alzarsi ed abbassarsi in esso l'apparecchio di Abbe con lo specchio e il diaframma.

Lo stativo II ha il tavolo più grande, la vite micrometrica graduata, il condensatore mobile per mezzo di cremaliera indipendentemente dallo specchio, ecc. oltre ad altri particolari tecnici non trascurabili. Il II-a possiede poi anche il tavolino girevole con viti di centramento per la traslazione del preparato.

Generalmente poi si consiglia di fornirsi anche dei così detti apparecchi accessori del microscopio come del tavolino traslatore, del tavolino riscaldante, della camera lucida, del polarizzatore, del microscopettoscopio. Molti di questi accessori sono inutili. Il tavolino traslatore p. es., adattato a muo-

(fig. 1.)



vere in due sensi il preparato, non serve che in casi speciali e per studi speciali e si può benissimo non abituare ad adoperarlo: in ogni caso consiglio di fornirsi di un tavolino adattabile a qualunque microscopio come è quello del Reichert, e non di un microscopio fornito dello stesso. Il tavolino riscaldante, (V. Protozoologia) non serve che per casi speciali e può essere sostituito il più delle volte dal termostato; consiglio ad ogni modo per chi avesse necessità di tenere i preparati sotto il campo microscopico alla temperatura di 37° C. di mettere il microscopio nella camera riscaldante di Zeiss che è di legno, a fondo metallico con due aperture laterali per muovere il preparato e un vetro davanti per dar luce allo specchio; la temperatura si regola eventualmente con un termoregolatore e un termometro i quali poggiano sul tavolo portoggetti.

Necessario per il microscopista è invece il polariscopio; ma di questo apparecchio se ne parlerà più a proposito nel capitolo che riguarda l'esame delle farine.

## ESAME MICROSCOPICO DELLE CARNI FRESCHE E CONSERVATE E DEL GRASSO.

### Carni.

Praticando l'esame microscopico della carne, si deve cercare di rispondere ai seguenti quesiti:

- a quale animale appartenga la carne in esame;
- se la carne appartenga ad animali affetti da malattie infettive;
- se la carne sia invasa da parassiti animali;
- se la carne sia fresca, frolla, putrefatta, ammuffita;
- se alla carne si trovino commiste sostanze estranee.

1. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE A QUALE ANIMALE APPARTENGA LA CARNE IN ESAME. — Pochi si sono occupati di stabilire differenze tra le carni dei diversi animali che vengono macellati. Qualche ricerca è stata fatta soltanto sulle fibre muscolari striate e sulla grandezza delle cellule adipose; ma specialmente trattandosi di differenziare la carne di animali affini, non si può pretendere di potere sempre acquistare tanta sicurezza di giungere alla diagnosi.

Recentemente lo Stazi si è occupato del valore da dare all'esame istologico delle carni.

L'A. ha studiato anzitutto in generale la *dimensione*, la *forma*, la *struttura delle fibre*, poi la *posizione*, il *numero*, la *grandezza*, la *direzione dei nuclei*, ed infine le *cellule adipose*; poscia ha ricercati tutti i caratteri peculiari

ora indicati nelle singole carni dei bovini, bufalini, equini, suini, caprini e ovini.

**BOVINI. — Vitello.** — Fibre piuttosto piccole; striature trasversali sottilissime; i nuclei numerosi, grossi a paragone della fibra, sono situati, tanto ai lati di questa, quanto lungo la linea mediana (secondo Zoccoli e Nosotti, sono posti di preferenza nell'interno; secondo Savarese, occupano il centro; secondo Stazi di solito si trovano ai margini); le cellule adipose, alquanto ovali, offrono diametri minori di quelle di bue e di vacca (Nosotti).

**Giovenco.** — Fibre più grandi di quelle di vitello; striature trasversali alquanto più grosse; i nuclei ovali, ma non molto allungati, sono abbastanza numerosi, però si trovano fibre che ne hanno pochi; le cellule adipose sono tendenti alla forma ovale, come del resto in tutti i bovini.

**Bue.** — Fibre in generale più sviluppate delle precedenti; striature trasversali ancora più spesse; i nuclei grossi, ovali, molto allungati si trovano su tutta la faccia interna del sarcolemma; cellule adipose di grandezza maggiore paragonate a quelle degli altri animali da macello.

**Vacca.** — Fibre quasi identiche per dimensione a quelle di bue e così pure le striature trasversali; i nuclei sono grossi e numerosi; i globuli di grasso sono di poco più piccoli di quelli di bue.

**Toro.** — Fibre quasi tutte sviluppate quasi quanto quelle di bue, però nello stesso preparato se ne trova sempre qualcuna più piccola; la striatura trasversale è grossa e marcata; i nuclei compaiono alcuni come corpiccini ovali allungati, altri quasi rotondi, ed altri anche più allungati, tutti nella direzione longitudinale della fibra, di varia grandezza e non molto numerosi.

**BUFALINI. — Vitello.** — Fibre di grandezza intermedia tra il vitello bovino e un bovino adulto; le striature trasversali più marcate di quelle di un bovino in pari condizione di età; i nuclei, grossi, poco numerosi e in maggioranza ai lati della fibra.

**Giovenco.** — Fibre poco più grosse di quelle di giovenco bovino; striature trasversali più marcate e visibili; nuclei, alcuni più piccoli di quelli di vitello bufalino, altri più grossi, ma assai più numerosi, di una forma molto allungata.

**Bufalo.** — Fibre bene sviluppate, meno trasparenti di quelle di bue con le striature trasversali più marcate; i nuclei, in alcune fibre più numerosi, in altre meno, hanno forma diversa tra loro, alcuni molto allungati, altri ovali, altri quasi rotondi; le cellule adipose si veggono di forma poligonale.

**EQUINI. — Cavallo.** — Le fibre sono abbastanza grosse, ma generalmente meno che nei bovini e bufalini, con bellissima striatura trasversale somigliante a quella delle fibre bufaline. Da alcuni non si tiene affatto parola intorno ai nuclei e da altri se ne nega addirittura la presenza, però la fibra se è opportunamente trattata, essi rendono appariscenti nè più nè meno che quelli delle altre fibre, alcuni più grossi, altri più piccoli, tutti allungati. Le cellule adipose hanno una forma più decisamente ovale, ma meno sviluppate di quelle dei bovini e bufalini.



*Asino.* — Fibre sviluppate forse quanto quelle di cavallo con piccoli nuclei, i più piccoli fra quelli finora osservati.

*SUINI.* — Le fibre sono eguali o poco più grosse di quelle di bovino adulto; le striature trasversali si veggono sottilissime; i nuclei sono più numerosi in alcune fibre, in altre meno, alcuni sono ovali allungati, altri pure allungati ma rotondi ad una estremità ed a punta nell'altra. Tra alcune fibre poi si trovano alcuni ammassi di cellule adipose che generalmente sono di forma poligonale.

*CAPRINI - OVINI.* — Le fibre sono sottili forse quanto quelle di vitello di poche settimane; le striature trasversali sono finissime, ma molto bene visibili; i nuclei sono grossi, alcuni di forma uguale a quelli delle altre fibre, altri o rotondi o triangolari.

Dopo tutte queste osservazioni lo Stazi conchiude col dire che per poter differenziare una carne da un'altra, l'aiuto più forte ci è dato dall'esame macroscopico; l'esame istologico si presta male.

Troppo grosse sono le differenze che si notano non solo nelle fibre degli animali dello stesso genere, in quelle dei muscoli del-

lo stesso animale, ma ben anche in quelle dello stesso muscolo e perfino del medesimo fascetto muscolare, per potervi insistere.

Tuttavia i trattatisti, limitando la *diagnosi differenziale tra carne bovina, equina e suina*, ritengono che, fino a un certo punto, queste carni si possano distinguere.

a) in base al numero dei nuclei, allo spessore degli strati e allo spessore totale delle fibre muscolari striate, perchè:

— quelle dei bovini sono ricche di nuclei, presentano una striatura abbastanza delicata e uno spessore che è inferiore a quello delle altre (fig. 2-a);

— quelle degli equini sono povere di nuclei e presentano striature un po' grossolane e uno spessore maggiore (fig. 2-b);

— quelle dei suini sono povere di nuclei, posseggono una striatura grossolana e uno spessore maggiore di quello di tutte le carni degli animali da macello (fig. 2-c);

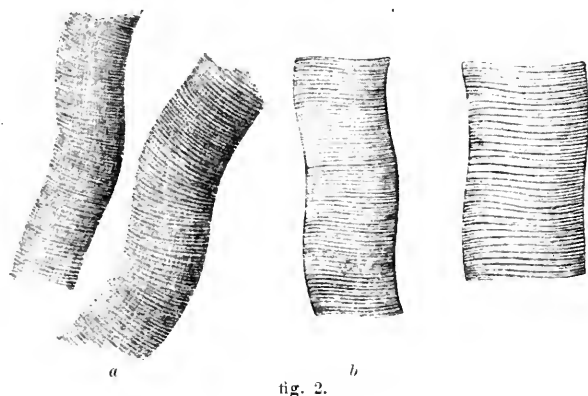


fig. 2.

b) in base alla grandezza delle cellule adipose, perchè:

— le cellule adipose dei bovini sono molto grandi, anzi le più grandi di tutte fra quelle degli animali da macello;

— le cellule adipose degli equini sono le più piccole fra tutte (media  $\mu$  35);

— le cellule adipose dei suini sono più piccole di quelle dei bovini, ma più grandi di quelle degli ovini (media  $\mu$  60).

Soltanto recentemente per differenziare una carne dall'altra si è pensato di mettere a profitto il metodo sierodiagnostico.

Il Riegler ha infatti trovato che i sieri dei conigli trattati con l'estratto acquoso di una data specie di carne, danno un precipitato o per lo meno un intorbidamento quando ad essi si aggiunge una certa quantità dell'estratto stesso, mentre non danno la detta reazione quando si aggiungano estratti di carne di specie diversa da quella adoperata per le iniezioni. La reazione compare tanto se l'estratto è fatto con carne cruda, quanto se fatto con carne bollita o arrostita. Se si tratta di un miscuglio di più estratti il siero di essi presenta la reazione solo quando si aggiungono estratti identici a quelli adoperati. Così il Riegler avrebbe diagnosticate le carni di coniglio, di capriolo, lepore, cavallo, vacca, porco, gatto.

Secondo Miessner ed Herbst il succo deve essere preparato, se con carne fresca nel rapporto di 1 di carne a 50 di soluzione fisiologica di cloruro di sodio, se con carne salata nel rapporto di 1 a 25. Si può anche adoperare la soluzione di cloruro sodico col 0,5 % di acido fenico.

## 2. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE SE LA CARNE APPARTENGA AD ANIMALI AFFETTI DA MALATTIE INFETTIVE.

*Trattandosi di ricercare batterii nelle carni fresche*, l'esame si pratica raccogliendo con ansa di platino sterilizzata, a seconda dei casi, o il sangue del cuore, della milza, della muscolatura e ove occorra delle vene, o il materiale che si trova nei focolai in cui ha sede la malattia, o l'uno o l'altro materiale, allestendo poi preparati a fresco e preparati colorati preferibilmente colla miscela dello Ziehl o con quella dell'Ehrlich usando ove occorra il metodo del Gram, tuttociò secondo i noti dettami della tecnica batteriologica.

Quando si debbano fare preparati dalla superficie di taglio degli organi, io consiglio fornirsi di vetrini portoggetti sterilizzati direttamente alla fiamma, disporne alcuni sul tavolo sopra carta bibula, prenderne un altro per un lato stringendolo fra il pollice e l'indice e poi imbrattarne il bordo tagliente; indi la medesima superficie di taglio imbrattata strisciarla sopra alcuni dei portoggetti posti sul tavolo. Si ottengono così dei preparati in cui il materiale è posto in unico strato sottile, che poi si secca e si colora.

Quando poi si abbia a che fare con pezzi di tessuti è consigliabile porli in capsule Petri, tagliuzzarli con una forbice curva senza togliere del

tutto il coperchio della capsula e poi, per farne preparati, prenderne una certa quantità con un robusto ago di platino e porla sopra un vetrino portoggetti sterilizzato schiacciando poi la poltiglia con un altro vetrino che si toglie via per strisciamento. Solo quando il tessuto sia molto spappolabile come nel caso di milze carbonchiose, si può ridurlo ad uno strato più sottile col bordo di un vetrino pulito come nel caso precedente. I vetrini sporchi che hanno servito per le manualità si gettano in un recipiente contenente acido solforico più o meno concentrato.

Se si tratta di *pioemie*, quando siano prodotte da stafilococchi, si ricercheranno questi germi possibilmente nei focolai osteomieliitici che è difficile manchino: quando invece siano prodotte da streptococchi si ricercheranno preferibilmente nelle localizzazioni dei vari organi. La loro diagnosi è semplicissima: basta per gli stafilococchi riconoscere cocchi disposti ad ammassi, per gli streptococchi disposti a catena di rosario: da un semplice preparato però è impossibile riconoscere la specie cui questi germi appartengono.

Del resto va notato che oltre ai cocchi si possono rinvenire altri germi, poichè non è detto che tutte le *pioemie* siano prodotte da cocchi: in tali casi senza la prova culturale e la prova biologica è impossibile giungere ad una diagnosi.

Se si tratta di *setticemie* alla ricerca microscopica si è data da molti poca importanza, perchè, v'è chi ancora ritiene che la setticemia sia dovuta soltanto ai prodotti settici assorbiti e penetrati nel torrente circolatorio, cioè a quei materiali che con parola impropria sono dette tossine della putrefazione. Ma dal momento che queste forme di setticemia, tutte le volte che si sottomettono a studio dal batteriologo, si vedono trarre la loro origine da batteri, è evidente che la ricerca microscopica si deve fare anche in queste affezioni per trovarne gli agenti causali: soltanto non tutte le etiologie delle diverse setticemie sono note, o ben sicure.

I bovini e più raramente gli equini e i suini possono essere affetti da *carbonchio ematico*. Si troveranno: un edema gelatinoso, sottocutaneo, le carni pallide, così dette lessate, la milza grande nerastra, spappolabile, il sangue picco. In tutti gli organi si troveranno bacilli lunghi e grossi ( $\mu$  3-6 —  $\mu$  10) con gli estremi che nei preparati fissati e colorati appaiono tagliati nettamente e specialmente quando sono riuniti a catena con uno spazio ovoide tra di loro per cui le estremità appaiono leggermente concave; questi germi sono immobili e appaiono per lo più nei tessuti forniti di una capsula, e sono colorabili col metodo del Gram.

I bovini, gli ovini ed i caprini, possono essere affetti da *carbonchio sintomatico*. Si troverà in una regione museolare una

tumescenza crepitante al tatto, coperta di pelle generalmente necrosata, contenente un liquido sierosanguinolento; la massa muscolare rossobruna, infiltrata del liquido stesso, e intramezzata da bolle di gas; versamenti nelle cavità, e la milza ingrandita, rossastra. Facendo preparati dal liquido sottocutaneo, dal succo dei muscoli, dalla polpa della milza, si troveranno forme bacillari simili a quelle del carbonchio ematico, ma in massima più corte e più sottili ( $\mu 1 \times 5-8$ ). Quelle osservate nel succo dei muscoli sono però modificate nella loro forma avendo assunto l'aspetto di bacchette da tamburo o di fuso per la presenza di spore. Sono bacilli per lo più isolati, che alcuni ritengono colorabili col metodo del Gram, ove all'alcool si sostituisca l'olio di anilina e non si pratichi la colorazione di contrasto.

Gli equini, e anche gli altri animali che forniscono carne mangereccia, eccezione fatta pare dei bovini, si possono trovare affetti da *edema maligno*. Essi presenteranno un edema sottocutaneo qualche volta crepitante, sierosanguinolento, diffuso, congestione di tutti gli organi e quindi anche della milza e la muscolatura di un colorito rossovinoso, fuxinata, come impropriamente si dice. Nella milza, nel liquido sottocutaneo, ed eccezionalmente soltanto, nel sangue, si troveranno bacilli più corti e più sottili di quelli del carbonchio ematico, ( $\mu 1 \times 3$ ), a estremità arrotondate, isolati o riuniti a filamenti (lunghi sino a 15-40  $\mu$ ) immobili o quasi, mentre sono mobili le forme corte, non colorabili secondo la maggioranza degli autori col metodo del Gram.

I bovini adulti possono poi essere affetti dalla così detta *setticemia emorragica*, dalla *febbre catarrale maligna*, dal *tifo* ecc.; i vitelli dalla *difterite*, dalla *diarrea bianca* ecc.; i bufali dal *barbone bufalino*; gli ovini dalla *mastite gangrenosa*, dalla *polmonite cerminosa*; i suini dal *mal rosso*, dalla *setticemia suini*, dalla *peste*, dal *colera*; i polli dalla *difterite*, dal *colera*, dalla *peste*.

Per la ricerca e la diagnosi degli agenti etiologici di queste malattie, non val nulla il semplice esame microscopico: è d'uopo chiedere aiuto alla batteriologia.

Quando invece si tratti di infezioni da batteri che tendono a localizzarsi negli organi, allora potrà trattarsi di *tubercolosi*, di *actinomicosi*, di *farfino* nei bovini, di *tubercolosi* e di *difterite* negli uccelli, di *morva* e di *tetano* negli equini.

Se si tratta di *tubercolosi*, nei bovini si noterà nei polmoni o nei gangli linfatici (nei noduli meno caseificati) o nel muco bronchiale la presenza di bacilli dritti o un po' curvi, sottili e lunghi ( $\mu 0,3 - 0,5 \times 3-5$ ) colorabili coi metodi di colorazione dei bacilli

della tubercolosi. Quando invece si tratti di tubercolosi nei polli, la ricerca va specialmente fatta nel fegato, nei gangli mesenterici, nella milza e i polmoni vanno esclusi.

In ogni caso poi se si tratta di esaminare il contenuto intestinale, specie di bovini, bisogna ricordare che nelle feci delle vacche normalmente si trova un bacillo, quello di Möller, che assomiglia abbastanza al bacillo della tubercolosi e si colora nello stesso modo. E ancora bisogna aver cura di non confondere, fondandosi sulla sola colorazione dei batteri, focolai di pseudotubercolosi, con quelli di tubercolosi: nei primi i batterii sono generalmente corti e grossi, ammassati e facilmente coltivabili.

Se poi si tratta di carni affette da *actinomyces* si noterà la presenza di tumori duri di aspetto lardaceo (specialmente nel mascelle inferiore dei bovini) con punti suppurati contenenti corpi bianco-grigiastri o giallastri che trattati con acido acetico al 5 % e dilacerati si presentano costituiti da masse filamentose i cui elementi alla periferia hanno aspetto di clave o pere, colorabili coi comuni colori anilini e dimostrabili anche nelle sezioni col metodo di Weigert.

Se si tratta di *farcino bovino* in corrispondenza delle estremità si troveranno dei cordoni duri ed indolenti lungo il decorso dei linfatici, nel cui contenuto in mezzo a dei focolai di rammollimento si troveranno dei filamenti ramificati e variamente intrecciati che stanno a dimostrare la natura streptotricea dell'affezione.

Se si tratta di *morca* si avrà la presenza dei noduli mocciosi e nel sangue di bacilli un po' meno sottili dei bacilli tubercolari, a estremità arrotondate, generalmente non omogeneamente colorabili, vacuolati come si dice o a navicella, isolati o a due, mobili qualche volta, non colorabili coi metodi di colorazione specifica dei bacilli tubercolari e neppure col metodo del Gram.

Se si tratta di *difterite dei polli*, si troveranno in corrispondenza della base della lingua delle membrane bianco-sporche, le quali esaminate al microscopio col metodo di Neisser si dimostrano contenere il bacillo della difterite. Questa affezione non va confusa con quella della difterite comune dei polli che andrebbe chiamata difterite setticemica, la quale è prodotta da un germe, appartenente al gruppo del *b. coli*. Questo germe si ritrova anche nel sangue dei polli, mentre non vi si trova il *b.* della difterite genuina.

Se si tratta di *tetano* nel solo sito d'inoculazione nella ferita, quando essa sia rinvenibile, si troverà una leggiera chiazza emorragica con germi sottili e diritti, generalmente isolati e qualche volta riuniti a filamenti, resistenti al Gram, mobili, forniti (pare

solo se la ferita è aperta) di una spora terminale, che dà loro l'aspetto di bacchetta di tamburo. Nessun organo presenta microscopicamente delle alterazioni, nè in essi, nè nel sangue sono visibili dei germi.

Se si tratta di carni affette da *botriomicosi* si avranno negli equini dei noduli duri bianco-giallicci, come granelli di sabbia circondati da una guaina comune, entro ai quali si trovano corpi di grandezza varia disposti a grappolo, grandi da 5 a 100  $\mu$  che risultano dalla riunione di forme cocciche, le quali sarebbero anche state coltivate. Indubbiamente sono formazioni parasitarie e il parassita è stato chiamato *discomyces equi* dal Rivolta o *botryomyces equi*: però il suo nome comune è quello di *micr. ascoformans* datogli dal John e Robe.

Secondo Kitt sembra si tratti di un germe simile allo stafilococco aureo. Però non solo non è ben sicura la sua parentela con lo stafilococco piogeno aureo, ma neppure quella coi cocchi, checchè a mio vedere, sia stato scritto sul proposito. Difatti alcuni autori

lo collocano nell'anello di passaggio fra i microbi ed il gruppo degli *streptothrix*, che hanno ben altra forma di quella dei cocchi e che sono delle individualità batteriche note ormai con tutt'altri particolari.

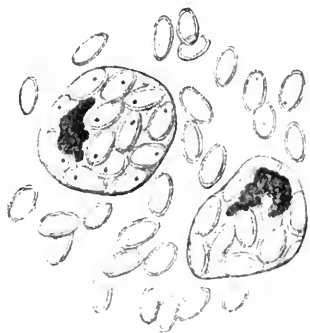


fig. 3.

Se si tratta di carni affette da *blastomiceti*, si potranno trovare lesioni diverse tanto più che recentemente si sono messi in rapporto questi esseri con le neoplasie: ricorderò solo che nel *farcino criptococcico* del cavallo (nel pus delle ghiandole) si trovano dei corpi ovoidali un po' acuminati ai poli, contenenti spesso qualche granulo splendente (fig. 3).

Questi corpicciuoli sono stati riferiti a blastomiceti non solo per la loro forma ovoidale (si sa che vi sono di tali blastomiceti) ma anche perchè sarebbe stato coltivato dai noduli un blastomiceta che nel cavallo avrebbe prodotto noduli consimili, con esito alla formazione di un pus denso, analogo a quello del farcino criptococcico. Noi però non abbiamo mai potuto vedere gemmare alcuno di questi corpicciuoli, nè abbiamo trovato in essi le caratteristiche microchimiche dei blastomiceti, e dal materiale farcinico ricco di tali corpuscoli sinora non abbiamo potuto isolare in alcun terreno speciale forme blastomicetiche (Casagrandi ed Adani).

Se si tratterà di volatili e si noteranno sulla cresta, sul collo, attorno all'arco sulle palpebre, nella faccia interna delle zampe dei noduli solidi che schiacciati lasciano fuoriuscire un contenuto formato da corpi ovali o rotondeggianti, un po' splendenti, a contenuto omogeneo, come raggrinzato (fig. 4), si dovrà parlare di vaiolo dei polli.

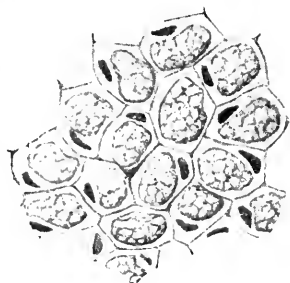


fig. 4.

Un'affezione identica si può produrre microscopicamente (Casagrandi) e macroscopicamente (Sanfelice) con un blastomiceta.

Secondo Marx e Sticker, l'epitalioma contagioso dei polli che si fa sinonimo di vaiolo dei polli sarebbe invece dovuto ad un virus filtrabile attraverso le candele di Berkefeld che si ritiene non lascino passare neppure i più piccoli batteri visibili coi comuni ingrandimenti.

Trattandosi poi di praticare queste ricerche in carni conservate, occorre fare preparati a fresco, diluendo un po' del materiale, se poltaceo, in un poco di acqua con cloruro sodico e osservando prima a debole e poi a forte ingrandimento; se di carne in pezzi, strofinando questi sopra un vetrino pulito, diluendo magari un po' della poltiglia degli stessi con acqua e sottoponendo il materiale all'esame microscopico, dopo avere colorati i preparati coi metodi del Gram, dello Ziehl Neelsen, ecc. È però impossibile, generalmente, venire a una diagnosi esatta senza le ricerche colturali e la prova sugli animali, e quest'ultima è necessaria perchè per i diversi procedimenti di conservazione della carne le ricerche batteriologiche possono avere esito negativo.

3. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE SE LA CARNE SIA INVASA DA PARASITI ANIMALI. — Nelle carni possono trovarsi cisticerchi, cisti, larve, vermi adulti, sarcosporidi.

a) *Carni cisticercate*. — Le carni con cisticerchi sono di suini, di bovini ecc.

I *cisticerchi della carne suina* rappresentano lo stato cistico o vescicolare della *taenia solium*, che ha per oste definitivo l'uomo, nel cui intestino si sviluppa prendendo il nome di *verme solitario*.

Se si tratta di carni fresche la diagnosi si fa esaminando i muscoli sopra e sotto-scapolari, cervicali, femorali, sotto-lombari, la lingua e il cuore (ciò che non esclude, che i cisticerchi si possano trovare in altri organi, nelle sierose, nel fegato, nella milza ecc). Ritrovando quivi dei corpiccinoli ovalari piuttosto duri, bian-

osporehi, pressochè della grandezza di un grano di miglio, si estraggano tagliando con un piccolo bisturi la capsula connettivale da cui sono circondati, si pongano sopra un vetrino portoggetti in una goccia di glicerina e si schiaccino ponendoli sopra un altro vetro portoggetti. Così operando si svagina dalla vescicola lo scolice o testa, che osservata al microscopio ad un ingrandimento di circa 60 diametri (oc. 3-4 Kor. obb. 2) mostra le quattro



fig. 5.



fig. 6.

ventose e una doppia serie di uncini robusti in numero di 24-32 (fig. 5).

I *cisticerchi della carne bovina* rappresentano lo stato vescicolare o cistico della *taenia medio-canellata* o *saginata* o *inverme*, che ha per ospite definitivo l'uomo, nel cui intestino si sviluppa, prendendo pure il nome di *verme solitario*.

Se si tratta di carni fresche, osservando il cuore, la lingua, i masseteri, i muscoli del laringe, si troveranno delle vescicole di forma allungata, poco più lunghe e poco più larghe di  $\frac{1}{2}$  em., presentanti nell'equatore una macchia bianco-giallastra.

Si completa allora l'esame con la ricerca microscopica operando come per il cisticerco della *taenia solium*. Nel preparato si vedrà la testa svaginata del verme, fornita di 4 ventose, con una depressione centrale fra le stesse, senza uncini: a questa parte del verme, che corrisponde alla testa fa per lo più seguito un collo molto pieghettato (fig. 6).

Se si tratta di carni conservate si può procedere con il metodo di Riessling più o meno modificato.

A tal uopo si prende della soda o potassa caustica, la cui densità segni al densimetro di Baumé 19° corrispondenti presso a poco a 1,15 di peso specifico, oppure non avendo il densimetro, si sgrassa la carne con etere e si prepara una soluzione concentrata alcalina così fatta che introducendovi in essa la carne, questa galleggi. In una data quantità di liquido (circa 300 cmc.) posto in una boccia a collo largo e a tappo smerigliato, si fa pervenire una certa quantità di carne (che se è molto grassa si tratta precedentemente con etere), tagliuzzata finamente e si sbatte bene sino ad ottenere una poltiglia, il più possibilmente omogenea. D'altro canto si versa in un bicchiere a calice circa 1 litro o più della soluzione alcalina e in essa si versa la poltiglia ottenuta, si agita alquanto e si lascia a sè. In breve tempo al fondo si de-



positano i cisticerchi, mentre la carne rimane galleggiante. Si decanta allora il materiale e si esamina ciò che va al fondo schiacciandolo, in una goccia di glicerina, fra due vetri portoggetti.

Si può anche digerire la carne in pepsina idroclorica a 40° per varie ore: il grasso dopo questo trattamento rimane a galla; i cisticerchi intaccati solo nelle loro pareti, vanno a fondo; la carne viene digerita; è questo il procedimento di Schmidt-Mühleim.

I *cisticerchi dei ruminanti e dei suini*, che si trovano nelle sierose (peritoneo, pleura, pericardio) e non nei muscoli prendono il nome di *cysticercus tenuicollis* e rappresentano generalmente lo stato cistico o vescicolare della *taenia marginata*, l'antica *globulosa*, la quale ha per ospite definitivo il cane nel cui intestino si sviluppa come verme perfetto. Già ad occhio nudo questo cisticerco si riconosce facilmente perchè la grandezza della vescicola caudale è per lo più quella di un novo di piccione o di pollo, d'onde il nome che ad essa danno i beccai di « bolla d'acqua ».

Ad ogni modo per esser sicuri della diagnosi, sgusciata la vescicola e compressala fra due vetri si libera la testa del giovane verme fornita d'un lungo collo pieghettato, il quale sta invaginato nella vescicola nel cui liquido galleggia.

Questa testa osservata al microscopio si presenta provveduta di 36-38 uncini.

I *cisticerchi che si trovano nella cavità peritoneale e pleurica del coniglio e della lepre* e che prendono il nome di *cysticercus piriiformis* rappresentano la fase cistica della *taenia serrata* che ha per ospite definitivo il cane. Essi si presentano isolati o riuniti a grappolo con una macchia polare bianca. Schiacciandoli fra due vetrini esce lo scollice, che al microscopio presenta quattro ventose e un rostello armato di 34-48 uncini.

b) *Carni con cisti*. — Le carni con cisti appartengono ai più diversi animali: possiamo trovare fra di esse quelle con cisti di echinococco e con cenuri.

Le *carni affette da echinococco* sono caratterizzate dalla presenza di vesciche di varia grandezza (da un seme di canapa alla testa di un bambino) sferiche, ovoidali o modellate a seconda della struttura dell'organo, per lo più circondate da una capsula connettivale fornita dai tessuti. Esse si possono trovare nei più diversi organi, ma con preferenza nel fegato dei carnivori, dei rosicanti, degli equini, dei ruminanti e persino degli uccelli e costituiscono lo stadio larvale-cistico o idatico della *taenia echinococcus*, che ha per ospite definitivo il cane e anche altri animali.

La diagnosi di cisti da echinococco indipendentemente dai dati macroscopici, che grandemente la facilitano e la rendono il più delle volte indubbia, è possibile mediante l'esame microscopico. Se entro la cisti, sulla sua parete interna si trovano quei bottoni arrotondati, che si chiamano *cistinidi* o *reseicole germinative* alla cui superficie esterna si notano delle appendici cave, ognuna delle quali corrisponde ad una testa di echinococco, basterà distaccare pezzetti della parete cistica in corrispondenza di questi bottoni ed osservarli al solito in una goccia di glicerina debitamente schiacciati fra due vetrini portoggetti. Si vedrà allora che

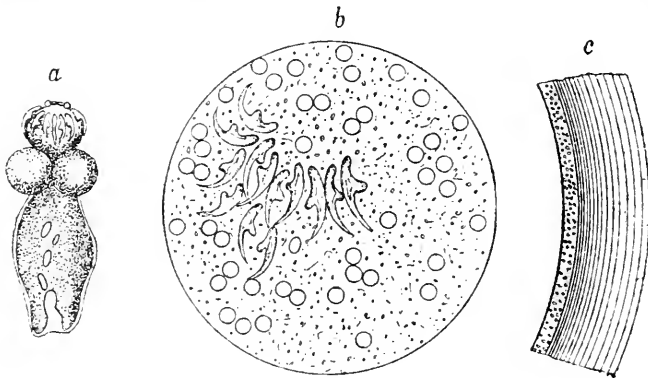


fig. .7

ogni *cistinido* è costituito da 1 a 20 e più scolici o teste con 4 ventose, un rostello ed una corona di uncini (fig. 7-*a*, *b*).

Se invece entro la cisti, dallo strato germinativo interno della medesima non si sono originate i *cistinidi*, per cui l'idatide, pur essendo di un volume più o meno notevole, rimane sterile ossia diventa *acefalocisti*, è sempre possibile far la diagnosi di cisti da echinococco prendendo in considerazione la struttura della membrana della cisti, che si presenta in ogni caso multistratificata, come se fosse costituita da una serie di lamelle sottili, amorfe disposte concentricamente (fig. 7-*c*). Dopo di che non è neppure necessario, per avvalorare la diagnosi, rinvenire nella parte interna della parete cistica, lo strato granuloso o germinativo che vi si deve trovare.

Le cisti che si sviluppano nel cervello del montone ed eccezionalmente del bue, della capra, del cavallo, intorno alla grandezza di un ovo di pollo (fig. 8-*a*), si chiamano *ceauri cerebrali* e rappresentano la fase cistica della *taenia coenurus* che ha per ospiti

definitivi il cane e la volpe. Ha una parete robusta e contrattile con macchie bianche più o meno numerose, corrispondenti ad altrettante teste di tenie invaginate in diverso stadio di sviluppo.

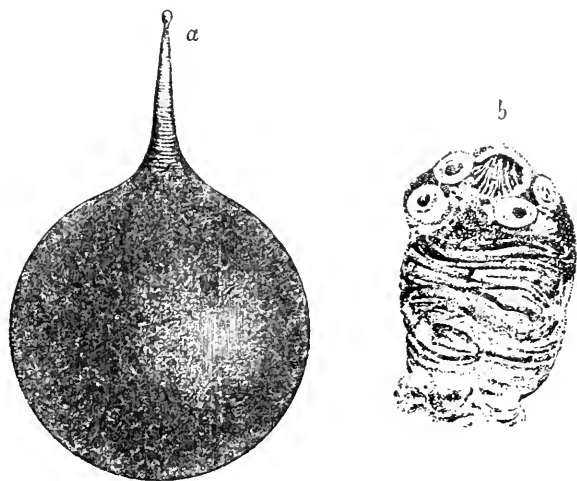


fig. 8

Schiacciando fra due vetrini alcuni di questi punti bianchi, si vede una testa (fig. 8-b) armata di una doppia corona di uncini alcuni lunghi, altri corti, in numero di 12-16 per ogni corona, con quattro ventose e un collo contenente corpuscoli calcarei.

c) *Carni con larve di vermi.*

Se si tratta di suini si possono ritrovare nei muscoli dei medesimi le larve della *trichina spiralis* (fig. 9), la quale conduce vita di verme completo nell'intestino dello stesso animale. La presenza di questo verme nelle carni dei suini si dimostra tanto nelle carni fresche che conservate, per la presenza di puntini biancastri fra le fibre muscolari; questi puntini sono rappresentati da una cisti fusiforme della grandezza di  $\mu 40 \times \text{mm. } 0,30 - 0,80$ , nel cui interno si trova il vermicciattolo ripiegato a spira e della lunghezza di circa 1 mm. La capsula è chitinoso, può anche calcificarsi e generalmente presenta ai poli un certo numero di cellule adipose. Per giungere alla diagnosi è necessario trovare il vermicciattolo, perchè la presenza di puntini biancastri può esser dovuta

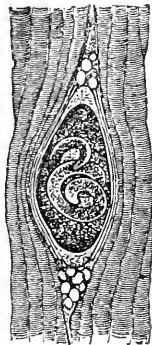


fig. 9.

a focolai actinomicotici calcificati, a depositi di tirosina, a sarcosporidi. Quando i puntini non si vedono ad occhio nudo, specie se le cisti non sono calcificate, se si tratta di carni conservate, si dilacerano pezzetti presi a caso, in acido acetico al 0,20 %; se si tratta di carni fresche si dilacerano in semplice cloruro sodico, le fibre dei pilastri del diaframma, dello psoas, della lingua, degli intercostali, degli addominali. Quando le cisti siano calcificate si può favorire l'uscita del verniciattolo dilacerando il materiale in acido cloridrico o solforico al 2-5 % e guardare il preparato ad ingrandimento di 40 diametri.

Siccome poi oltre alle carni suine, bovine e ovine si adoperano per alimento anche quelle dei pesci, degli uccelli, ecc., così l'igienista dovrebbe ricercare pure se in questi ultimi esistessero dei vermi: però sono ben pochi i parassiti interessanti. Possiamo citare fra gli altri il *tetrarhynchus molae* o *dibotriorhynchus gracilis* che si trova nel fegato dell'*orthogoriscus mola*, il quale viene in alcuni paesi mangiato dalla povera gente. Esso rappresenta lo stato larvale di un verme che ha, a quanto pare, per oste definitivo il pesce-cane. La diagnosi del resto si può fare quasi ad occhio nudo perchè al taglio il fegato lascia fuoriuscire una serie di fili biancastri caratteristici, rappresentanti la coda del verme, essendo la testa incistata in una capsula connettivale entro il parenchima epatico.

Così pure nei pesci d'acqua dolce e in particolar modo nel luccio (*esox lucius*) nella bottatrice (*lota vulgaris*), nella perca (*perca fluviatilis*) e anche in diversi salmonidi, si può trovare nei museoli il così detto *plerocercoid*. Esso rappresenta la larva del *botriocephalus latus*, che ha per ospite definitivo l'uomo. Trattasi di un corpo ovalare, ciliato, lungo 25-30  $\mu$ , che si scava un canale nei muscoli, rappresentante la testa e il collo del botriocefalo.

#### d) Carni con vermi allo stato adulto.

Se si tratta di fegato di bovini, equini, ovini, suini, nei dotti biliari, si può trovare il *distoma epatico* dalla caratteristica forma di foglia di salice, visibile ad occhio nudo. Quando non lo si trovi, si può esaminare il contenuto dei dotti e le feci al microscopio per cercarvi le uova, che sono grandi  $\mu$   $130 \times 80$ , opercolate, a contenuto granuloso. È specialmente poi indicata tale ricerca quando si sospetti la presenza del distoma nei polmoni, nella milza, nei muscoli. Se si tratta di fegato di ovini è facile trovare insieme al *distoma epatico*, un altro distoma più piccolo, il *lanco-lato*, le cui uova sono più piccole, misurando  $\mu$   $39-41 \times 24$  ovoidali, opercolate, nerastre.

Se si tratta di pancreas di bovini e bufalini, si può trovare, almeno in bovini asiatici, un distoma simile al lanceolato ma anche più piccolo, le cui uova sono opercolate al polo più largo e grandi  $\mu$  44-49  $\times$  23-30.

Nei muscoli dei suini infine, si possono trovare delle cisti, simili a quelle delle carni trichinate, ma più piccole, da dove si può estrarre un piccolo distoma, diagnosticabile in ogni caso al microscopio, il così detto *distoma della carne*.

Eccezionalmente nel fegato degli ovini e dei bovini, in corrispondenza della biforcazione della vena porta, si può trovare la *bilhertia crassa*, verme visibile ad occhio nudo, che si dice generalmente essere riconoscibile per trovarsi accoppiato. Però in questo sito per lo più si trovano solo dei maschi i quali si riconoscono per i noti caratteri della *bilhertia haematobia* dell' uomo; soltanto sono un po' più lunghi: il maschio infatti misura mm. 14 e la femmina 20. In ogni caso la diagnosi si fa cercando le uova nell'interno del corpo del verme. Queste sono rotondeggianti o fusate con un solo polo fornito di una appendice spinosa, grandi mm. 0,17  $\times$  0,04: contengono un embrione. Più numerose si trovano nelle vene mesenteriche e in quelle della vescica.

Se si tratta di polmoni di ovini specialmente di montone e di capra si può ritrovare lo *strongilo filaria*. È un nematode: il maschio è lungo 3-8 cm. e la femmina 5-10 cm. Le uova sono ellissoidi della grandezza media di 120  $\times$  55  $\mu$ , contenenti un embrione mobile e un guscio sottile, che si deforma ad ogni movimento dell'embrione. Gli embrioni si possono trovare anche liberi, della grandezza di  $\mu$  540  $\times$  20.

Non va confuso con lo *strongilo rossastro* più piccolo (il maschio misura circa 2 cm. e la femmina 3): le sue uova misurano  $\mu$  95  $\times$  60, sono quindi più strette e anche più piccole.

Se invece si tratta di polmoni di bovini ed equini (cavallo, asino specialmente) si può trovare lo *strongilo micruro*, di cui il maschio è lungo 4 cm. e la femmina 6-8. Sono dei vermi filiformi, contenenti uova ellissoidi grandi  $\mu$  85  $\times$  35 con embrioni che possono essere anche liberi: sono grandi  $\mu$  280  $\times$  25.

Questo verme non va confuso quando si trova nei bronchi del cavallo e dell'asino con lo *strongilo d'Arnfield*, ch'è più piccolo, misurando il maschio circa 3 cm. e la femmina 4-5. Le uova sono molto più larghe, misurando  $\mu$  50-60 e anche un po' più lunghe misurando  $\mu$  80-100.

Se si tratta di polmoni di suini, si può trovare lo *strongilo paradosso*, di cui il maschio è lungo 12-15 mm. e la femmina 20-50 mm.

Le uova sono grandi  $\mu$  57-100  $\times$  39-72. Gli embrioni possono essere, liberi, grandi  $\mu$  220 a 350  $\times$  10-12.

Nella cute, nel cuore, nel sangue, nel peritoneo, nel fegato, nei bronchi, nell'occhio ecc., dei vari animali (buoi, cavalli, asini, muli, cani, polli, piccioni, rane) si possono poi trovare le piú diverse *filarie*, la cui presenza si riconosce spesso senza l'aiuto del microscopio: è sempre però anche con questo difficile stabilirne la specie; epperò credo inutile insistervi sopra.

e) *Carni con sarcosporidii*. — Si notano nei suini, parallelamente alle fibre muscolari striate, delle strie bianche o bianco-grigie grandi 2-4 mm.  $\times$   $\frac{1}{2}$ , che prendono il nome di otricoli o sarcocisti.

L'aspetto di questi otricoli o sarcocisti è quello di sacchetti fufiformi: la cuticula che li delimita, presentasi nei muscoli del porco striata trasversalmente (fig. 10) sembra per la presenza di

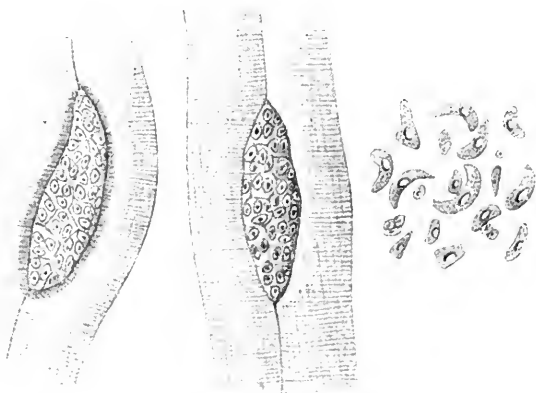


fig. 10.

poricaneali e i corpi che vi si contengono hanno forme diversissime, globulare, ovalare, semilunare, sino alla reniforme che sarebbe quella dei corpuscoli adulti, omologhi ai corpuscoli falceiformi delle gregarine.

Questi corpi furono chiamati otricelli o otricoli del Miescher o corpuscoli del Rainey, gregarine miescheriane *synchytria miescheriana*, *miescheria utriculosa*. Sono molto comuni nel maiale ove prediligono gli stessi muscoli dove si trova generalmente la trichina. Si possono trovare anche nel cavallo, dove però è piú fa-

cile trovarli nell'esofago, e nella lingua. Nei bovini si possono trovare nei muscoli del dorso e delle spalle e anche nella lingua.

Un altro sarcosporidio (*sarcocystis tenella*) è frequentissimo nelle pecore dove predilige l'esofago, ma può trovarsi anche nei muscoli del cuore, onde la morte per cardioparalisi: esso diviene visibile ad occhio nudo in forma di noduli biancastri grandi quanto un grano di miglio e più ancora. In quest'ultimo caso, quando cioè i noduli sono tanto sviluppati, prende il nome di *balbiana gigantea*. Anche nelle fibre muscolari dei bovini fu rinvenuto un sarcosporidio non ancora ben definito (*sarcocystis blanchardi*?)

4. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE SE AD UNA DATA CARNE SIANO COMMISTE SOSTANZE ESTRANEE O CARNI DI ALTRI ANIMALI. — Sono le carni conservate quelle alle quali si possono trovare commiste sostanze estranee, e generalmente sono gli amidi quelli che più di frequente vengono aggiunti.

Si fa diagnosi di mescolanza con amido, indipendentemente dalla specie dell'amido, strofinando frammenti di carne sopra un vetrino e poi lo si bagna con acqua o con glicerina diluita. Si osserva quindi il materiale al microscopio, aggiungendo lateralmente al vetrino coprogetti una goccia di tintura di iodio diluita: se ci sono corpuscoli di amido siano pure frammentati, si coloreranno in bleu. Bisogna però aver cura di non tener conto dei piccoli granuli in cui non è visibile la striatura, perchè per lo più questi appartengono al pepe. Del resto in genere la farina aggiunta è quella di patate per cui o si troveranno frammenti di granuli o grossi granuli più o meno rigonfi e sfaldati. L'aggiunta di farina, si fa per aumentare la così detta proprietà di legare, ossia di assorbire acqua per rendere la carne conservata, succolenta, coerente al taglio. Presso di noi costituisce una frode: non però così in altri paesi, dove v'è tale usanza: per es. alla salsiccia, si ritiene da molti salumai in Germania che sia necessaria l'aggiunta del 2 % di farina.

Molto più difficile è riconoscere se le carni conservate siano commiste o anche sostituite con altre carni: almeno l'esame microscopico è di poco o niun aiuto in tale ricerca. In genere è la carne di maiale, specialmente se insaccata che viene mescolata o sostituita con altre: p. es. con quella equina. A fare una diagnosi differenziale possiamo oggidì ricorrere alla prova sierodiagnostica, lunga e difficoltosa, con la quale recentemente p. es., il Gröning sarebbe riuscito a dimostrare la presenza della carne equina, in

carni non solo fresche, ma salate, conservate, affumicate di altri animali.

Si preparano a tal uopo dei conigli inoculandoli sottocute per 8-9 settimane con estratto di carne equina (V. p. 18): quando il siero di questi animali aggiunto a sangue di cavallo diluito produce subito un precipitato a fiocchi fini o grossi, esso è pronto. Allora si preparano degli infusi in soluzione fisiologica delle carni sospette (lasciando macerare a freddo la carne se vecchia per 12-24 ore) e si filtrano sino a limpidezza. A questi infusi limpidi si aggiunge il siero specifico. Si ha un precipitato solo se nell'infuso fatto con carne equina o con altra carne in cui è mescolata l'equina.

Questo procedimento è meno rapido ma sembra più sicuro di quello del Nötel, il quale inocula i succhi nello speco vertebrale dopo averli trattati con soda all'1%.

5. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE SE LE CARNI SIANO FRESCHE, FROLLE, PUTREFATTE, DEGENERATE, ACARIATE, AMMUFFITE, COLORATE. — *Le carni fresche* presentano le fibre bene dissociabili, conservano la loro elasticità, permettendo una certa trazione senza spezzarsi; il sarcolemma e il contenuto delle fibre sono molto trasparenti, gli strati mono e birefrangenti sono netti ma poco apparenti; i nuclei sono chiari e contengono nucleoli; attorno al nucleo e soprattutto ai poli, esiste sempre uno strato di protoplasma granuloso, avanzo del protoplasma primitivo. Durante poi il periodo della rigidità cadaverica le fibre sono meno elastiche, più compatte e più friabili; è difficile ottenere fibre lunghe; le striature sono molto più evidenti che nelle fibre di muscolo fresco (Fiorentini).

*Le carni frolle* hanno perduto quasi completamente la loro elasticità; tentando di dissociare le fibre non si riesce che a spezzettarle; il protoplasma si spappola e si scinde entro il sarcolemma il quale conserva ancora un certo grado di resistenza e di elasticità tanto da resistere a quelle pressioni che con gli aghi gli si imprimono nelle preparazioni; gli strati mono e birefrangenti tendono a scomporsi e ridursi in forme fibrillari e granulose; i nuclei del sarcolemma sono pochissimo visibili ed il protoplasma è in gran parte opaco (Fiorentini).

*Le carni putrefatte* si riconoscono troppo bene per i caratteri fisici. Qualora però fosse necessario procedere a ricerche speciali, per es. per il sospetto che appartengano ad animali morti di malattie infettive, si possono fare preparati a fresco e colorati per vedere se vi siano microrganismi e chiedere aiuto alla batteriologia.

Occorre però essere molto cauti prima di giudicare in via di putrefazione una carne che contenga dei germi, poichè è ben vero



che finchè dura la rigidità cadaverica nelle carni di animali sani non si trovano germi; ma non è così nelle carni frolle, che sono poi quelle che si mangiano. Non è quindi consigliabile di ritenere inadatta al consumo quella carne che dal suo interno dà luogo a sviluppo di colonie di germi banali perchè questa può essere semplicemente frolla. Nelle carni putrefatte il maggior numero dei germi trovasi alla superficie e facendo delle culture a piatto, con un po' di raschiatura superficiale, primeggiano le colonie del *b. vulgare* (*proteus vulgaris*). Quando poi si tratti di carni conservate è esclusivamente il criterio fisico quello che guida alla diagnosi.

Va da sè che in assenza del criterio fisico e del criterio batteriologico, non bisogna confondere con carni alterate da processi putrefattivi, quelle le cui fibre si presentano al microscopio in preda a fatti degenerativi (fig. 11-a, b, c): si possono trovare fibre a contenuto granuloso come spruzzate con inchiostro di china, col contenuto granuloso che scompare dietro aggiunta di acido acetico

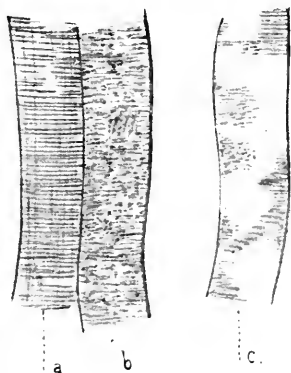


fig. 11.

(degenerazione albuminoide); fibre che presentano un contenuto fatto di goccioline adipose finissime (degenerazione grassa) che non si disciolgono con l'aggiunta di acido acetico; fibre che presentano la sostanza contrattile disposta in masse zollose ed accartocciate (degenerazione cerea) ecc.

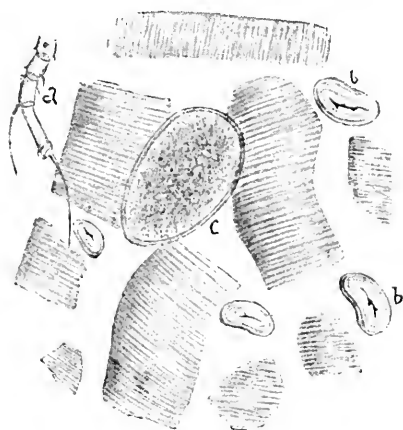


fig. 12.

Le carni contenenti acari sono specialmente quelle che trovansi in commercio, seccate, o polverizzate. È facile riconoscere la presenza di questi es-

seri, se viventi, esaminando un frammentino in cui si scorga qualche punto polverizzato, o se si tratta della polvere di carne esaminandola direttamente in soluzione fisiologica di cloruro sodico: se le carni sono vecchie e gli acari sono morti, si tro-

veranno i loro cadaveri, o frammenti di essi (fig. 12-a), od anche le uova (fig. 12-c).

*Le carni ammuffite* finalmente oltre che per i caratteri fisici si dovrebbero riconoscere al microscopio per la presenza di miceli appartenenti a diverse muffe, diagnosticabili per mezzo delle loro terminazioni fruttifere; ma perchè si abbia questo reperto allo esame microscopico, è necessario che l'ammuffimento sia recente. Se è vecchio non si troveranno che spore, corpuscoli cioè rifrangenti o rotondi od ovali grandi 5-7  $\mu$  a contenuto omogeneo senza vacuoli (nel qual caso è più probabile si tratti di blastomiceti. La diagnosi non è possibile che raschiando un po' di carne e ponendola sopra una capsula di Petri in cui si sia versato dell'agar-agar, meglio se acidificato (V. Batteriologia). Se si sviluppano molte colonie di muffe trattasi certamente di carne ammuffita, se una o due bisogna andar canti nel dare un responso positivo, perchè trattandosi di materiali stati esposti all'aria è ben difficile che non vi sia caduta sopra qualche spora di muffa.

*Le carni colorate*, indipendentemente dalle colorazioni artificiali che loro si danno a scopo di sofisticarle, specialmente se conservate ed insaccate possono esserlo per opera di germi. Trattasi specialmente della colorazione rossa che si forma alla superficie della carne dovuta ad un germe di facile diagnosi, il *b. prodigiosum* che non è però quello che colora le carni conservate, specialmente di pesce. A questo proposito è bene ricordare che mentre per il primo non si impedisce il consumo della carne, per il secondo sì, almeno nel caso in cui i pezzi di pesce siano uniformemente colorati in rosso. Si possono anche trovare le carni fosforescenti per sviluppo di batteri fosforescenti; ma sono reperti estremamente rari. Se non si associano processi putrefattivi queste carni guaste ma non nocive, sono del resto ancora commestibili.

### Grasso.

In quanto al grasso o strutto, a parte la frode che si commette vendendo una data specie di esso, per esempio quello di porco, aggiunto di grasso di bue, la quale non può essere scoperta con l'esame microscopico (e che è probabile possa dimostrarsi con la prova siero-diagnostica) il microscopista può essere chiamato a dire se ad esso vi siano commisti corpi estranei, come amido, polveri minerali, ecc. È molto facile ritrovare queste sostanze, prendendo una determinata quantità di grasso e facendolo bollire con il doppio di acqua, lasciando quindi in riposo il materiale

dopo averlo versato in un bicchiere a calice. Se vi sono corpi estranei a poco a poco precipitano mentre il grasso rimane galleggianti. Allora non rimane che raccogliarli, dopo decantazione, con una pipetta ed esaminarli al microscopio. La raccolta si fa molto bene se si versa il liquido caldo in un imbuto al cui collo sia applicato un tubo di gomma stretto da una pinza. Quando si creda giunto il momento della completa separazione dei corpi estranei dal grasso, si apre la pinza, facendo pervenire il deposito e una certa quantità di acqua in un sottostante bicchiere a calice, badando di richiudere a tempo, cioè prima che passi il grasso. L'acqua pervenuta nel bicchiere a calice si lascia a sè sino a che si è formato il deposito, oppure lo si centrifuga e si esamina il residuo.

## ESAME MICROSCOPICO DEL LATTE, DEL FORMAGGIO E DEL BURRO.

### Latte.

L'esame microscopico del latte deve essere diretto a risolvere i seguenti quesiti: se si tratti:

- di vero latte o di colostro;
- di latte proveniente da mammelle sane o malate;
- di latte contenente germi che ne alterino la costituzione;
- di latte contenente germi di malattie infettive;
- di latte annacquato o seremato, aggiunto, a scopo di frode, di sostanze diverse:
- di latte contenente del sudiciume;
- di latte di vacca, di pecora, di asina, ecc.

1. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE SE SI TRATTI DI VERO LATTE O DI COLOSTRO. — Presa con una pipetta una goccia di latte piuttosto piccola dal sedimento di un bicchiere a calice in cui si sia versato il liquido in esame e lasciatolo per un certo tempo a sè, lo si esamina coll'ingrandimento di 300-400 D, avendo cura di non comprimere il vetrino coprogetti.

La diagnosi riesce molto facile perchè diversi sono gli elementi morfologici del latte a seconda che si tratta di latte proveniente da glandole mammarie funzionanti da poco tempo o no, cioè a seconda che si tratta del così detto colostro o del latte propriamente detto: infatti nel colostro si trova un numero di elementi assai maggiore che nel latte ordinario.

*Gli elementi morfologici del colostro sono (fig. 13-b):*

a) i globuli lattei sferici a contenuto splendente e incolore, a contenuto così accentuato da sembrare costituito da un cerchietto osceo, grandi da 2 a 10-12  $\mu$ , generalmente disposti in ammassi di globuli di diversa grandezza;

b) cellule grandi, irregolarmente rotondeggianti od ovali, nucleate, ma a nucleo non sempre visibile, contenenti goccioline adipose, molto piccole, giallognole;

c) i corpuscoli del colostro propriamente detti, ossia cellule come le precedenti, ma più grandi (30-40  $\mu$ ) a nuclei invisibili, zeppe di globuli lattei (incolori);

d) rare cellule pavimentose a contorni delicati, a nucleo ovale circondato da protoplasma finamente granuloso, spesso contenente goccioline di grasso;

e) rari leucociti per lo più fortemente granulosi.

Gli elementi morfologici del vero latte (fig. 13-a) si riducono invece ai soli globuli lattei, già descritti, i quali mostransi coi soliti caratteri e distinguonsi da quelli che si trovano nel colostro

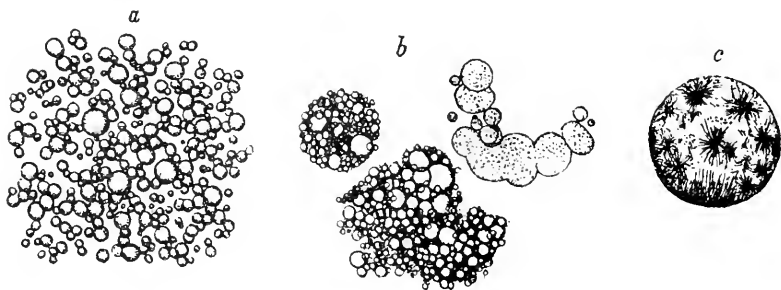


fig. 13.

specialmente perchè non sono più disposti ad ammassi ma isolati e sono anche di grandezza in massima meno varia.

Se però il latte è stato bollito si troveranno anche generalmente dei corpi sferici costituiti da un gran numero di cristalli aghiformi di acidi grassi disposti per lo più in forma raggiata (fig. 13-e).

2. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE SE SI TRATTI DI LATTE PROVENIENTE DA MAMMELLE SANE O MALATE. — Spesso accade che il latte venga secreto da mammelle malate durante alcuni periodi di ingorgo o di infiammazione delle mammelle stesse.

L'esame microscopico in questi casi mette in evidenza: un buon numero di leucociti dei quali alcuni si presentano inalterati e altri

sono talmente rimpinzati di globuli lattei da ricordare i corpuscoli del colostro; ammassi di globuli lattei trattiene da mucina i quali prendono il nome di corpuscoli moriformi. I leucociti stanno a indicare fatti infiammatori e da alcuni si ritiene che un latte, non sedimentato, contenente per ogni campo microscopico a 300 diametri più di 5 leucociti debba ritenersi nocivo.

Insieme ai leucociti si possono notare anche dei *corpuscoli rossi*, la cui presenza in certi casi può notarsi anche senza quella dei leucociti in seguito a congestione dei vasi delle glandole mammarie aventi esito in piccole emorragie ghiandolari, ciò che può succedere fisiologicamente nel periodo che precede quello dell'allattamento e in seguito a lesioni dei capezzoli.

Si riesce facilmente a rinvenire questi elementi, lasciando a sè il preparato, non compresso, dopo aver messo a fuoco i corpuscoli di latte ed abbassando poi il tubo portalenti, perchè mentre i corpuscoli lattei trovansi aderenti alla superficie del vetrino coproggetti, gli elementi cellulari più pesanti trovansi sulla superficie del portoggetti. Si può anche allungare il latte con acqua e poi esaminarne il sedimento o il residuo della centrifugazione (Fiore).

3. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE SE IL LATTE CONTENGA GERMI CHE NE ALTERINO LA COSTITUZIONE. — Sono conosciute alcune alterazioni così dette spontanee del latte che coll'esame microscopico si può dimostrare se esse siano prodotte da microrganismi o no.

I quesiti quindi che possono risolversi sono i seguenti:

a) *Se il latte sia coagulato per opera di microrganismi che vi si siano sviluppati.*

La coagulazione del latte per opera di microrganismi può essere dovuta alla produzione di acido lattico oppure a un enzima.

La coagulazione dovuta alla produzione di acido lattico deve essere a microrganismi i quali si possono distinguere in due gruppi: il primo costituito dai microrganismi specifici della fermentazione lattica ed un secondo da microrganismi i quali eventualmente trovandosi nel latte possono determinarla, o microrganismi facoltativi della fermentazione lattica, ecc.

Oggidì si conoscono molti microrganismi specifici della fermentazione lattica i quali sono stati anche distinti a seconda che producono o no gas; ma in fondo il più comune è un bacillo e precisamente il *b. acidi lactici* di Hüppe.

In quanto a quelli così detti facoltativi della fermentazione lattica, sono diversi: tra gli schizomiceti, gli stafilococchi piogeni, il bacillo piogene fetido, il batterio del colon, ecc.; tra i bla-

stomiceti il *saccaromices lactis* del Duclaux, il *saccaromices acidi lactici* del Grotenfelt, ecc.

La coagulazione dovuta alla azione di un enzima chiamato dal Duclaux presame, è prodotta per lo più dai così detti *tyrothrix* che forse non sono che degli *streptothrix*: però questi microrganismi non sono i soli perchè da recenti studi anche altri comunissimi sembrano dotati della stessa proprietà.

Allorchè l'esame microscopico non rivela la presenza di alcun microrganismo nel latte coagulato, e si può escludere che la coagulazione sia dovuta a batteri, occorre pensare ad altre cause, per es. a sostanze ingeste, poichè vi sono dei vegetali i quali ingeriti dagli animali possono determinare la coagulazione del latte stesso come la *cyana cardunculus*, il *ficus carica*, l'*oxalis acetosella*, ecc.

b) *Se il latte sia colorato per opera di microrganismi che vi si siano sviluppati.*

Il latte può presentarsi colorato e quando ciò è opera di microrganismi, si può dimostrare versando alcune gocce del latte colorato in tubi di latte scremato e sterilizzato mezz'ora per tre giorni nella pentola di Koch.

In tal caso se il latte innestato (naturalmente posto nel termostato) assume la colorazione del latte colorato, devesi ritenere che la colorazione è dovuta a microrganismi, nel caso inverso va attribuita a materiale ingerito dagli animali, poichè si sa che il latte può essere: colorato in azzurro per ingestione di *anchusa officinalis*, di *mercurialis perennis*, di *isatis tinctoria*, di *equisetum arvense*, ecc.; in giallo dal *melampyrum arvense*, dal *daucus carota*, ecc.; in rosso dal *cactus opuntia*, dal *galium rubioides*, ecc.

Ora la colorazione che può subire il latte per microrganismi può essere la colorazione bleu, la rossa, la gialla, la violetta ecc.

La colorazione bleu devesi al *b. cyanogenus s. synciancus* o del latte bleu (Hüppe). Va notato però che per opera di questo microrganismo, il latte non assume sempre una tinta bleu marcata ma una tinta che può variare dal grigio al bleu e che non è sempre identica a quella che si manifesta quando il microrganismo venga coltivato nei vari terreni che si usano in batteriologia ove assume una tinta che va dal bruno al verde.

La colorazione rossa è dovuta a diversi microrganismi, di cui i più frequenti sono il *b. prodigiosum*, la *sarcina rossa*, il *b. lactis eritrogenus*, ecc. È stato pure trovato un *sacc. ruber*, che non è *Phefe rosa* comune dell'aria. Questo *sacc. ruber* può colorare il latte in rosso framboesia e trasformare il latte in un materiale che ingerito dai bambini produce diarrea (Casagrandi).

Le colorazioni gialle e violetta sono meno frequenti: la prima è per lo più dovuta alla *sarcina gialla*: la seconda per lo più al *b. jaanthinum*.

c) *Se il latte abbia assunta una consistenza viscosa per opera di microrganismi.*

Allorchè il latte presentasi viscoso o filante, devesi attribuire tale fatto alla fermentazione viscosa la quale è prodotta da una serie di microrganismi i quali sono stati distinti in due gruppi: l'uno rappresentato da quelli che producono una sostanza mucosa o filamentosa dallo zucchero di latte (*mic. lactis pituitosus* di Hüppe, *dipl. lactis liodermos* di Schmitz-Rotz, *strept. hollandicus* di Hüppe) e da quelli che la producono dai corpi albuminoidi (*bac. lactis pituitosus* di Löffler, *bac. lactis viscosus* di Adametz, *bac. mesentericus culgatus*). Questi due gruppi di microrganismi possono facilmente differenziarsi col solo esame microscopico facendo parte del primo solo *cocchi* e del secondo solo *bacilli*. Per ricerche più esatte occorre però procedere all'esame batteriologico.

d) *Se il latte abbia perduto la sua normale costituzione per opera di microrganismi diversi.*

Molte volte il latte presentasi alterato e le alterazioni presentate non possono riportarsi ad alcuna delle fin qui esposte.

L'esame microscopico può in alcuni casi rivelare la presenza di ifi i quali fanno subito pensare a alterazioni dovute ad *ifomiceti* o a *oidii*. Va ricordata a questo proposito la presenza quasi costante dell'*oidium lactis*, il quale si sviluppa generalmente nel latte in cui si è prodotto acido lattico, purchè la quantità dell'acido formatosi non superi  $1 \frac{1}{2}$ -2 °. Fra le muffe è comune il *penicillum glaucum*.

In altri casi però l'esame microscopico continua a rivelare la presenza di bacilli. Così per es. quando il latte ha sapore amaro, se questo non è dovuto a vegetali ingesti (come le *foglie di patate*, di *arthemisia absinthium*, di *sambucus nigra*, ecc.), può essere dovuto allo sviluppo nel medesimo dei bacilli mesenterici. Così quando il latte ha odore di acido butirrico mentre si può ritenere che abbia subito la fermentazione butirrica, che può o no essere secondaria alla fermentazione lattica, si possono trovare altri microrganismi per la cui diagnosi, naturalmente, bisogna praticare ricerche batteriologiche. Essi sono: il *bacillus o vibrio butiricus* del Pasteur, il *clostridium butiricum* del Prazmowsky, il *bac. butiricus* (aerobico) dell'Hüppe, cui vanno aggiunti il *bac. mesentericus culgatus*, il *bac. liodermos*, il *bacillus lactis albus* del Löffler, il *sacc. butiricus* del Valenti, ecc.

4. ESAME MICROSCOPICO DEL LATTE PER RICONOSCERE SE ESSO CONTENGA GERMI DI MALATTIE INFETTIVE. — Dal punto di vista igienico è certamente questo il quesito più importante a risolversi: è però impossibile riuscirvi senza l'aiuto della batteriologia.

I microrganismi patogeni che esistono nel latte sono del resto generalmente così scarsi, che anche per quelli diagnosticabili per mezzo di colorazioni specifiche, la ricerca spesso riesce infruttuosa pure essendo il latte in esame dai medesimi inquinato.

Ad ogni modo allorchè si voglia procedere alla ricerca dei bacilli con il solo aiuto del microscopio, è utile dopo essiccato e fissato il preparato, lavarlo in etere o cloroformio per liberarlo dai globuli di grasso, oppure lasciarvi essiccare una goccia di latte diluita in due gocce di soluzione di carbonato sodico 1 %, sempre servendosi della semplice temperatura ambiente, e poi dopo colorare.

Il preparato va fatto dal sedimento formatosi in un bicchiere a calice o dal residuo centrifugato. È meglio però, lasciato depositare il latte o centrifugato, allungare con acqua il deposito dopo decantazione: si lascia poi riposare e si centrifuga ancora, esaminando il nuovo deposito che si viene a formare (Fiore).

Serve bene poi il metodo dell'Ilkewitsch. All'uopo: si trattano 20 emc. di latte con acido citrico; si filtra il materiale e si raccoglie il coagulo; si scioglie il coagulo in soluzione di fosfato sodico e si aggiungono 6 emc. di etere; si centrifuga il materiale ed il residuo si esamina.

Si può anche eseguire quest'altro procedimento: si prendono 30 emc. di latte, si centrifuga, si decanta, e il residuo si tratta con 2 emc. di potassa al 5 %; si agita e si lascia riposare, per 5-6 minuti; quindi si aggiungono 15 emc. di acqua distillata, si centrifuga ed il deposito si esamina.

Se poi con questi metodi si riesce a dimostrare la presenza di qualche microrganismo che abbia caratteri morfologici, riportantisi a quelli di alcuno dei patogeni, non lo si potrà però mai affermare con assoluta certezza.

Infatti per il bacillo del carbonchio, del tifo, del colera, ecc., non possediamo metodi di colorazione speciali, e per il bacillo della tubercolosi per il quale abbiamo questi metodi, giovano poco, perchè dagli studi della Rabinowitsch, del Petri ecc. è dimostrato che nel latte e nel burro esiste spesso un *bacillo pseudotubercolare* che si comporta verso le sostanze coloranti come il bacillo di Koch, e che negli animali produce lesioni che sono identiche a quelle della tubercolosi, bacillo che si distingue da quello di Koch perchè si coltiva facilmente, perchè le lesioni prodotte negli animali non sono trasmissibili in serie da animale ad animale, ecc.



Occorre quindi servirsi di altri mezzi i quali escono dal campo della microscopia, cioè per es.:

— per il *b. della tubercolosi* inoculazioni, del residuo ottenuto con la centrifugazione, nelle cavie (nella faccia interna della coscia di una cavia) e inoculazione in altra cavia delle ghiandole inguinali della prima, divenute più o meno caseificate per vedere se si tratta del bacillo di Koch o del pseudotubercolare, facendo nello stesso tempo culture per vedere se si tratta di un bacillo che si coltivi facilmente (pseudotubercolare) o no (bacillo di Koch).

— per il *b. del carbonchio* inoculazione sottocutanea a cavie nella regione addominale del residuo ottenuto con la centrifugazione, e ottenuta la morte dell'animale dopo tre giorni tutt'al più, procedere dal medesimo alla diagnosi del carbonchio (dall'esame dell'edema gelatinoso sottocutaneo, del sangue, del cuore, della milza ecc.).

— per il *b. del tifo*, per il *b. coli* e per il *v. del colera* procedere con gli stessi metodi che si seguono per la ricerca di questi microrganismi dall'acqua.

— per il *b. dissenterico*, fare innesti in terreni speciali e altre prove (V. batteriologia).

— per il *b. difterico*, esaminare il residuo della centrifugazione colorandolo col metodo di Neisser, fare culture, ecc.

5. ESAME MICROSCOPICO DEL LATTE PER RICONOSCERE SE SIA STATO ANNACQUATO O SCREMATO E MESCOLATO A SCOPO DI FRODE CON SOSTANZE DIVERSE. — Il latte viene anche facilmente sofisticato e le sofisticazioni che più facilmente vengono scoperte mediante l'esame microscopico si fanno allo scopo di ridare l'aspetto e la densità al latte stesso, quando esso è stato scremato od annacquato.

Prima di ricercare le sostanze usate allo scopo, si può osservare se il numero dei globuli lattei sia inferiore al normale. A tale scopo si pone una goccia del latte sotto al campo del microscopio, avendo cura in questo genere di ricerche di prendere sempre una goccia dello stesso volume e di usare un vetrino coproggetti sempre delle stesse dimensioni, attendendo prima di fare l'osservazione alcuni minuti perchè i globuli del latte vengano a galla e occupino tutto lo strato superiore del liquido in esame.

Procedendo in tal guisa con le debite cautele, fatti numerosi raffronti tra latte normale, scremato ed annacquato, si riesce dopo una certa pratica a poter dare un giudizio: per essere esatti, ci si potrebbe anche servire di un apparecchio simile al contaglobuli Thoma-Zeiss, detto citogalattometro del Guida.

Per riconoscere poi se il latte sia stato scremato od annacquato si può, come fa il Pasquini, centrifugare il latte ed esaminare ciò che rimane a galla.

Egli avrebbe veduto che nel latte normale i globuli del latte stanno fra di loro in rapporto numerico costante, cioè i globuli grandi sono circa un terzo dei medi e questi circa un terzo dei piccoli. Nel latte scremato non si trovano più i globuli grandi ed i medi sono ridotti più o meno a seconda della scrematura, sino anche a sparire. Nel latte annacquato si trovano invece tutti e tre gli ordini di globuli: però mentre nel latte normale essi sono addossati gli uni agli altri in maniera da non lasciare spazi tra di loro superiori al diametro di due globuli grandi, e sono anche in alcune aree disposti a strati, nel latte annacquato invece gli spazi sono sempre più o meno grandi.

Fatte queste osservazioni si può passare a ricercare le supposte sofisticazioni le quali generalmente consistono nell'aggiunta di *amidi* e principalmente di amidi di cereali. Questi sono riconoscibili all'esame microscopico (V. Esame microscopico delle farine). Si possono ad ogni modo mettere maggiormente in evidenza raccogliendo il deposito formatosi in un bicchiere a calice su cui si sia versato il latte con l'aggiunta di un poco di acqua iodata la quale colora in bleu tutti gli amidi, lasciando scolorati i globuli del latte.

L'aggiunta di *gomma dragante*, si dimostra, nel caso non sia completamente sciolta nel latte, per la presenza di fiocchi biancastri che assumono col iodio e l'acido solforico una tinta bleu-violetta sotto il campo microscopico.

L'aggiunta di *sostanza cerebrale* spappolata, è eccezionale e si rivela dai frammenti di fibre nervose, dalle cellule caratteristiche della sostanza cerebrale, da una serie di granulazioni amorfe che si trovano mescolate ai globuli del latte.

6. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE SE IL LATTE CONTENGA DEL SUDICIUME. — Si sa che un criterio sicuro per giudicare della conservabilità maggiore o minore del latte, può aversi dalla quantità di sudiciume che esso contiene e che tutto o la massima parte del sudiciume, che abitualmente si trova nel latte del mercato, è costituito da feci di vacca, colle quali vi arrivano in quantità grandissima quei germi che ne producono le alterazioni spontanee (Mazza e Gavelli).

Mediante l'esame microscopico di latte lasciato sedimentare o centrifugato (meglio ancora esaminando il residuo di latte aggiunto di molta acqua e lasciato sedimentare o centrifugato) si può riconoscere subito il latte sudicio per la presenza di elementi vegetali (fibre trachee, elementi cellulari contenenti clorofilla), uova di vermi ecc., tutti o quasi provenienti dalle feci delle vacche. Questi elementi si possono anche raccogliere facendo filtrare il latte sopra un filtro di cotone.

7. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE DA QUALE ANIMALE PROVENGA IL LATTE. — Per riconoscere la provenienza del latte in questi ultimi tempi si è utilizzato il procedimento sierodiagnostico.

Il Bordet ha infatti veduto se si inoculano a diverse riprese dei conigli nel peritoneo con un dato latte (scaldato a 65° per 1 ora), nel siero di sangue dell'animale aggiunto in vitro con alcune gocce del latte stesso (10-15 gocce a 3 cmc. di siero) si formano subito dei granuli e poi dei fiocchi e il liquido si separa in due parti l'una limpida e l'altra costituita dal deposito dei fiocchi riuniti. Nel siero di coniglio non trattato invece non si produce alcun fenomeno, come pure se il latte aggiunto proviene da un animale di specie diversa da quello dal quale proveniva il latte inoculato.

### Formaggio e burro.

Nel formaggio e nel burro possono ricercarsi mediante l'esame microscopico le sostanze che sono state aggiunte a scopo di frode, come amidi, sostanze minerali, ecc., nonché i microrganismi che importano dal punto di vista dell'igiene.

Per l'esame microscopico del *formaggio* si può stemperare un po' del materiale in acqua distillata e parte esaminarlo direttamente al microscopio, parte lasciarlo seccare sul vetro portoggetti e poi metterlo in un recipiente con etere, lasciandovelo in contatto per un quarto d'ora, e poi colorarlo con soluzione anilinic di Ziehl o di Ehrlich.

Però procedendo in questo modo non si potrà giungere sempre ad emettere un responso certo. Bisogna quindi fare in modo da ridurre prima il formaggio ad una poltiglia, gratuggiandolo se è duro, pestandolo in un mortaio se è molle e poi trattarlo con acqua distillata e sterilizzata: si decanta la parte liquida e si centrifuga, e si introduce una pipetta al fondo dove rimane il residuo, quindi si aspira e si esamina al microscopio all'ingrandimento di 300-400 diametri.

Qualora si ricercano microrganismi patogeni, si opera nella stessa maniera adoperando però mortaio, tubetti, pipette, acqua distillata, tutti sterilizzati. E l'acqua di lavaggio ottenuta dall'ultimo procedimento, si inocula negli animali o si semina nei terreni di cultura come per il latte.

Si può anche dopo trattato il formaggio poltigliato con acqua e centrifugato, applicare addirittura ad esso il metodo dell'Ilkewitsch ossia trattarlo con una soluzione di fosfato sodico, aggiun-

gervi 6 cme. di etere e poi il materiale centrifugato, inocularlo o seminarlo.

Riguardo al *burro* quando si sospetti sia sofisticato con l'aggiunta di sostanze estranee (indipendentemente dal grasso di bue, che si diagnostica colle prove chimiche e col polariscopio e forse col tempo anche con la sierozione), si può procederne alla ricerca col metodo dell' *Husson*. A tal uopo si aggiungono a circa 1 gr. di burro 10 gr. di glicerina, si fonde il tutto a bagnomaria, si agita bene, e poi si aggiungono 10 cme. di alcool a 90° e 10 cme. di etere a 66°. Quindi si pone il recipiente contenente il miscuglio in un bagnomaria a 25°. A poco a poco si separano due strati: il superiore fatto di alcool ed etere, l'inferiore di glicerina con un po' di alcool. Fra i due strati si depositano gli amidi, mentre gli altri elementi che eventualmente vi possono essere stati aggiunti, come polveri minerali, precipitano al fondo. Con una pipetta si raccolgono e si esaminano facendo preparati microscopici in acqua che si osservano all'ingrandimento di 300 diametri.

Si può anche usare lo stesso procedimento del *Fiore* indicato per il grasso, cioè trattare il burro a caldo con acqua ed esaminare il residuo formatosi nel bicchiere a calice.

Qualora nel burro si sospetti la presenza del *bacillo della tubercolosi* occorre fonderne una certa quantità, poi mentre ancora è caldo centrifugarlo, decantare, trattare il deposito con etere, lasciare ancora depositare e poi dopo decantazione dell'etere, riprenderlo con alcool, lasciarlo essiccare sopra un vetrino portoggetti e colorarlo coi metodi di colorazione del bacillo della tubercolosi.

Anche in questo caso bisogna però badar bene di non confondere il *b. della tubercolosi* coi *b. pseudo-tubercolari*, per cui occorre inoculare parte del residuo non trattato con etere e con alcool in animali sensibili come si fa nel caso in cui si tratta di latte.

In quanto alla presenza di altri germi patogeni, ricerca che non si fa mai, si fonda il burro e lo si tratti come il latte.

## ESAME MICROSCOPICO DELLE FARINE, DEL PANE E DELLE PASTE.

### Farine.

I semi di varie piante (specialmente quelli delle graminacee e delle leguminose) sono adoperati come sostanza alimentare, ed a tale scopo mediante opportuno trattamento viene dai medesimi separata la parte legnosa da quella più facilmente digeribile

costituita, dai granuli di amido: essa rappresenta la così detta farina.

La diffusione di questo materiale alimentare proveniente specialmente dai semi delle graminacee, divenuto di prima necessità, obbliga l'igienista a portare sulle farine una rigorosa sorveglianza. Ed è appunto colle indagini microscopiche sulle medesime che è lecito:

- riconoscere da quale vegetale provenga una farina o identificare la farina;
- riconoscere se in una farina esistano elementi provenienti da semi nocivi;
- riconoscere se la farina sia inquinata da parassiti.

1. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE DA QUALE VEGETALE PROVENGHA UNA FARINA. — L'esame microscopico si fonda sull'esame dei granuli di amido, del reticolo cotiledonare, dei peli e delle crusche.

1. *Esame dei granuli di amido.*

a) *Caratteri comuni ai vari granuli.*

I granuli di amido provengono da semi ove trovansi accumulati nel tessuto amidifero, il quale rappresenta lo strato più interno del seme e propriamente quello che sta all'interno dello strato delle cellule aleuroniche: questo insieme a tutti gli altri strati sovrastanti costituisce la così detta crusca.

Essi sono rappresentati da una serie di corpicciuoli, i quali, a seconda del vegetale da cui provengono, hanno caratteri diversi rilevabili dalla loro forma, grandezza, aggruppamento, stratificazione, ilo, comportamento alla luce polarizzata e agli agenti chimici.

*In base alla forma*, i granuli sono stati riuniti dal Di Vestea nei quattro tipi morfologici seguenti:

Tipo globoso lenticolare. — Segala, frumento, orzo;

Tipo globoso allungato. — Leguminose, fecole di patate, arrow-root (Antille, Maranta, Indie), fecole di tolomane, ecc.;

Tipo globoso poliedrico. — Mais, dura, grano saraceno, avena, riso;

Tipo globoso polimorfo. — Castagne, arrow-root (Travancore, Taiti), sagou, tapioca, moussache, ecc.

*In base alla grandezza medià massima*, i granuli degli amidi possono disporsi in una serie discendente a cominciare dall'amido di patata, che è il maggiore, sino a finire con quello del riso che è il più piccolo (non tenendo conto dei granuli composti di quest'ultimo e di quelli dell'avena):

Patate, sino a 100 e più $\mu$ .	Castagne, sino a 30 $\mu$ .
Leguminose, sino a 60 e più $\mu$ .	Grano saraceno, sino a 20 $\mu$ .
Segala, sino a 53-57 $\mu$ .	Dura, sino a 33-41 $\mu$ .
Frumento, sino a 43-47 $\mu$ .	Avena, sino a 9 $\mu$ .
Orzo, sino a 33-37 $\mu$ .	Riso, sino a 7 $\mu$ .
Mais, sino a 30 $\mu$ .	

*In base al modo di riunirsi fra di loro*, i granuli di amido si distinguono in semplici e composti.

Sono semplici i granuli di tutti gli amidi enumerati, meno quelli dell'avena e del riso, i quali si presentano isolati e riuniti in ammassi, che chiamansi granuli composti od a mosaico; però i piccoli granuli della patata e del frumento possono qualche volta trovarsi riuniti a tre, come ancora i granuli del mais possono trovarsi riuniti ad ammassi i quali non hanno nulla di comune coi veri granuli composti.

*In base alla stratificazione*, non è certamente possibile stabilire dati invariabili riguardo ai vari granuli, però si può ritenere che esistono granuli con striatura

sempre visibile: leguminose, patate;

ora visibile, ora no (alla periferia): segala, frumento, orzo, castagne, mais;

invisibile: avena, riso.

*In base ai caratteri dell'ilo* non è possibile stabilire raggruppamenti assolutamente costanti: si può soltanto ritenere che esistano granuli con ilo:

generalmente sempre visibile: fecole, segala, leguminose, orzo, mais;

spesso non visibile: frumento, castagne;

invisibile: avena, riso.

*In base al comportamento alla luce polarizzata dei granuli di amido più grandi* è permesso di distinguerli nei due gruppi seguenti:

Attivi:

In campo oscuro e chiaro: leguminose, patate (fig. 14-a) ed anche a volta qualche granulo di altre farine come p. es. di mais.

In campo oscuro e non chiaro: frumento (fig. 14-b), segala, orzo, mais, dura, grano saraceno, grossi granuli della castagna.

Inattivi in campo oscuro e chiaro: avena, riso.

Per l'esame dei granuli d'amido alla luce polarizzata si applicano al microscopio due prismi di Nicol (di spato d'Islanda, quindi birefrangenti) di cui uno in luogo del tubo portadiaframma annesso al tavolino del microscopio e

l'altro al disopra dell'oculare. Quest'ultimo prisma prende il nome di prisma analizzatore o superiore, l'altro di prisma polarizzatore od inferiore.

Il prisma superiore si può far girare attorno al proprio asse, dimodochè



fig. 14.

è possibile ottenere a volontà l'inverocio dei due prismi. Diconsi quindi inattive quelle sostanze che rimangono oscure a campo oscuro ed attive quelle che, pure essendo il campo oscuro, presentansi solo parzialmente tali; dimodochè si hanno in esse parti chiare e parti oscure. I tratti neri si osservano negli amidi così detti attivi, ed hanno generalmente la forma di una croce (appunto perchè gli amidi vanno considerati come degli sferocristalli risultanti dalla riunione di aghi birifrangenti).

Orbene, dei granuli d'amido osservati al micropolarizzatore, ve ne ha alcuni i quali sì in campo oscuro che in campo chiaro, presentano una croce nera, le cui branche sono regolari, salvo nelle patate che le presentano iperboliche; ve ne ha altri che presentano questa croce solo in campo oscuro senza caratteristiche speciali, eccezione fatta del granturco, la cui croce ha gli estremi slargati e brillanti, come ve ne ha ancora alcuni che non presentano alcuna croce nè in campo oscuro, nè in campo chiaro: fra questi però l'avena non può dirsi assolutamente inattiva.

*In base al modo di comportarsi dei granuli d'amido verso i vari reagenti* va ricordato il colore bleu-violetto che assumono in contatto con una soluzione iodica; il rigonfiamento, la dissoluzione che assumono nella potassa, caratteristico, per es., per l'amido di patata, i cui granuli assumono l'aspetto di grosse vescicole; le modificazioni che i granuli medesimi assumono in contatto con l'acqua calda (sfaldamento dei granuli del frumento, trasformazione dei granuli di segala discoidali nei granuli a ferro di cavallo, ecc.).

In questi ultimi tempi è stato poi studiato il modo di dipor-  
tarsi degli amidi delle principali farine (frumento, segala, orzo,  
mais) verso gli acidi, gli alcali, i mordenti, le sostanze maceranti,  
le sostanze coloranti (Casagrandi e Clavenzani).

Tra i vari acidi inorganici esercitano un'azione distruttrice  
potente, il solforico, il cloridrico, il nitrico ed il cromatico: gli altri,  
compreso il fosforico, non hanno azione sensibile. Gli acidi stessi,  
al disotto delle proporzioni del 50 %, salvo il cloridrico, pur mo-  
strando la medesima azione distruttrice sui granuli del frumento,  
dell'orzo e della segala hanno azione più debole verso quelli  
di mais, sia bianco, sia giallo. E precisamente l'acido solforico conc.  
puro nella proporzione di 35-40 p. di acido e 100 di acqua; l'acido  
nitrico puro nella proporzione di 20 di acido e 100 di acqua; il  
cloridrico nella proporzione del 25 % (sebbene quest'ultimo non  
così marcatamente come gli altri tre), riescono a distruggere tutti  
i granuli del frumento, dell'orzo, della segala, rigonfiano ed alterano  
i grossi granuli di mais, lasciando intatti i medi e i piccoli.

La maggior parte degli acidi inorganici non fa che rigonfiare i  
granuli.

In quanto agli alcali, a parte l'ammoniaca che non spiega al-  
cuna azione, la soda e la potassa distruggono, se concentrate anche  
mediocemente, i diversi granuli. Nelle proporzioni dell'1,8 % la  
potassa e in quelle del 0,75-1 % la soda, distruggono solo quelli  
di frumento, segala, orzo, lasciando intatti quelli del mais e più se  
di mais bianco che di mais giallo.

Tra i mezzi maceranti la miscela di Schultze distrugge tutti  
i granuli: diluendola almeno col doppio di acqua i granuli di  
mais resistono di più.

Tra i vari colori di anilina alcuni non colorano gli amidi, altri  
li colorano lievemente ed uniformemente, altri intensamente, ed  
altri colorano preferibilmente quelli di mais, come il rosso-ma-  
genta, il giallo-acido G., la dahlia, ecc.

#### b) *Caratteri speciali dei granuli principali:*

*Tecnica di esame.* — Generalmente per studiare i granuli di amido si pone  
un poco di farina in una goccia d'acqua o di glicerina diluita, spesso anche  
leggermente iodata e si sottopone il preparato all'esame microscopico, os-  
servandolo con lenti a secco (Oc. 3, *obb.* 6, *Kor.*). Però questo metodo non  
può dare risultati conformi al vero, allorchè si tratta di rilevare la gran-  
dezza dei granuli stessi, poichè essi non vengono egualmente idratizzati.  
Occorre quindi che precedentemente il materiale in esame venga versato in  
un bicchiere a calice pieno d'acqua (bastano pochi pizzichi di amido) ed al-  
lorchè nel fondo del vaso si è formato un certo deposito venga raccolto,  
mediante pipetta e sottoposto all'esame. È anche utile prima di procedere



a questa operazione di far passare la farina successivamente attraverso a tre stacci a maglie sempre più fine (mm. 0,75-0,50-0,25) e raccogliere la farina che rimane nell'ultimo staccio, sebbene questo procedimento non sia strettamente necessario.

*Singoli granuli d'amido.* — Nella descrizione di questi granuli credo utile dal punto di vista didattico incominciare da quei granuli che presentano caratteri completi e via via terminare con quelli che li presentano meno completi.

1° *Amido di patate* (fig. 15). — Globuli ovoidi o piriformi di



fig. 15.

grandezza variabile sino a 100-120  $\mu$ . generalmente isolati, con striatura sempre visibile, concentrica attorno all'ilo eccentrico per lo più puntiforme: attivi alla luce polarizzata in campo oscuro e chiaro:

2° *Amido di leguminose* (fig. 16). — Globuli reniformi ed



fig. 16.

ovoidi di grandezza variabile sino a 80-90  $\mu$ . isolati, con striatura periferica, con ilo centrale rappresentato da una fessura

longitudinale, sfrangiata agli estremi; attivi in campo oscuro e chiaro:

3° *Amido di segala* (fig. 17). — Globuli sferoidali appiattiti, isolati, alcuni grandi sino a 57  $\mu$ , altri piccoli, con striatura per lo più non visibile, ma a volte visibile alla periferia, con ilo

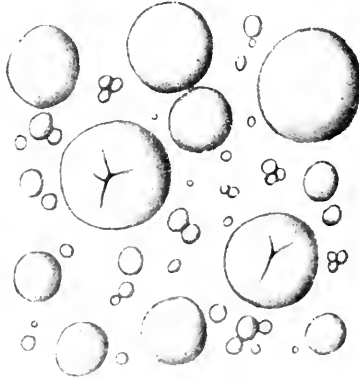


fig. 17.

centrale non però esistente sempre in tutti i granuli, raramente puntiforme, per lo più crociato, tricorno o stellato; attivi in campo oscuro;

4° *Amido di frumento* (fig. 18). — Globuli rotondi, visti di

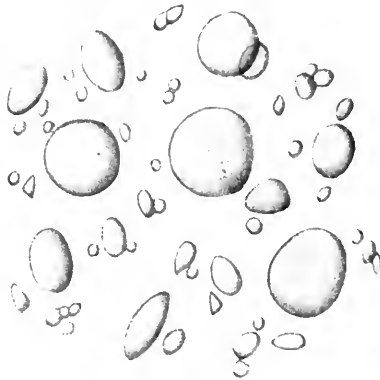


fig. 18.

fronte, a lente biconvessa visti di lato, grandi sino a 47  $\mu$ , isolati, con striatura rarissimamente visibile alla periferia, con ilo quasi costantemente invisibile, attivi alla luce polarizzata solo in campo oscuro;

5° *Amido di orzo* (fig. 19). — Globuli rotondi ed ellittici con tendenza ad assumere la forma irregolarmente tondeggiante a bordi alquanto sinuosi ed ondulati, grandi sino a  $37\ \mu$ , isolati, con striatura spessissimo invisibile anche alla periferia; attivi solo in campo oscuro;



fig. 19.



fig. 20.

6° *Amido di castagne* (fig. 20). — Globuli polimorfi (lenticolari, poliedrici, piriformi, a goccia cadente) grandi fin a  $25\ \mu$ , isolati, con stratificazione ed ilo poco evidenti e di essi attivi alla luce polarizzata soltanto i più grossi;

7° *Amido di mais* (fig. 21). — Globuli nettamente poliedrici

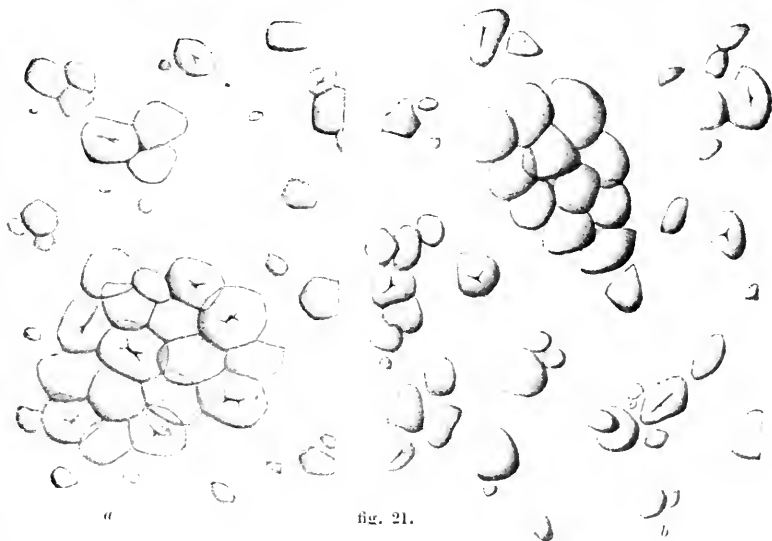


fig. 21.

quelli del mais giallo (fig. 21-a), ad angoli smussi quelli del mais bianco, grandi quelli del mais giallo sino a  $30\ \mu$  (in media 20-25), quelli del mais bianco pure sino a  $30$  (in media 22-27) ma la maggior parte  $15-20\ \mu$ , isolati e riuniti a grandi ammassi, con stratificazione per lo più invisibile, con ilo in molti puntiforme od a croce; attivi alla luce polarizzata in campo oscuro e, meno spesso, appena nel chiaro:

8° *Amido di dura* (fig. 22). — Globuli irregolarmente poliedrici ad angoli un po' smussi, raramente con stratificazione visibile,



fig. 22.

con ilo profondamente incavato, triraggiato, a croce, stellato o lineare, grandi da  $4$  a  $41\ \mu$ , cioè i granuli grandi  $\mu\ 33-41$ , i medi  $13-18$ , i piccoli  $3-7$ , attivi in campo oscuro:

9° *Amido di grano saraceno* (fig. 23). — Globuli irregolar-

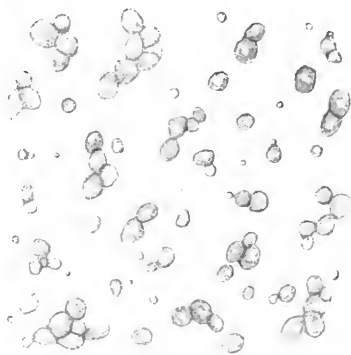


fig. 23.

mente poliedrici isolati e riuniti ad ammassi, generalmente aventi una forma allungata con ilo centrale a volte raggiato, alcuni grandi

4-8  $\mu$ , altri 10-15 e tutt'al più 20  $\mu$ , attivi in campo oscuro alla luce polarizzata;

10° *Amido di avena* (fig. 24). — Globuli poliedrici, isolati, grandi  $\mu$  9 o riuniti ad ammassi rotondi od ovoidali grandi 42-60  $\mu$ ,

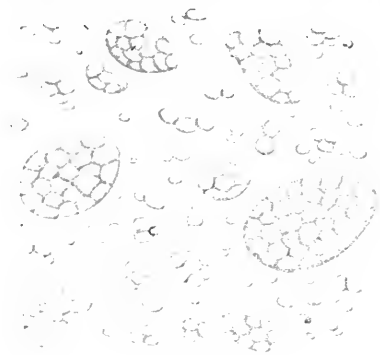


fig. 24.

detti granuli a mosaico, senza stratificazione nè ilo visibili; inattivi quasi completamente alla luce polarizzata;

11° *Amido di riso* (fig. 25). — Globuli poliedrici isolati o riuniti in granuli a mosaico della forma del reticolo cotiledonare cioè

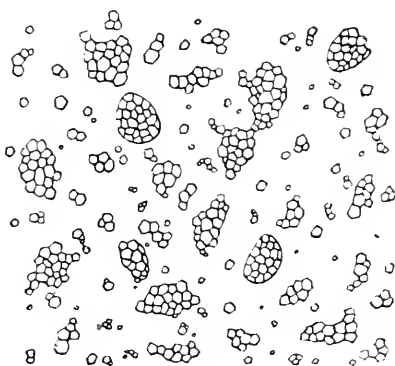


fig. 25.

ovoidale, gli uni e gli altri più piccoli di quelli della avena, senza stratificazione nè ilo visibili, completamente inattivi alla luce polarizzata.

2. *Esame del reticolo cotiledonare*. — Il reticolo cotiledonare costituisce la trama dell'albumo e può paragonarsi ad un cribro a fori di varia forma dentro i quali si trovano i granuli di amido. Di

esso si trovano i resti nelle farine, non potendo venir separato dall'amido mediante la macinazione.

Per studiarlo si pratica la setacciatura della farina attraverso ai tre stacci a fori sempre più stretti, si raccolgono le massette rimaste sull'ultimo staccio e si trattano in un vetro da orologio a freddo con potassa all'1 % od a caldo con carbonato sodico al 10 % fino a che sono divenute trasparenti e si sottopongono all'esame microscopico schiacciandole tra il vetrino coprogetti in una goccia di glicerina diluita.

Si può anche facilitare la ricerca dei reticoli trattando una certa quantità di farina con acido nitrico al 50 % che distrugge gli amidi; nel deposito che si forma si trovano i reticoli intatti.

Il reticolo amilifero presenta caratteri diversi a seconda del seme da cui proviene, i quali caratteri si rilevano dalle forme delle maglie, dallo spessore delle pareti, dalla resistenza alla potassa.

Riguardo alla forma delle maglie, il reticolo amilifero può essere (fig. 26):

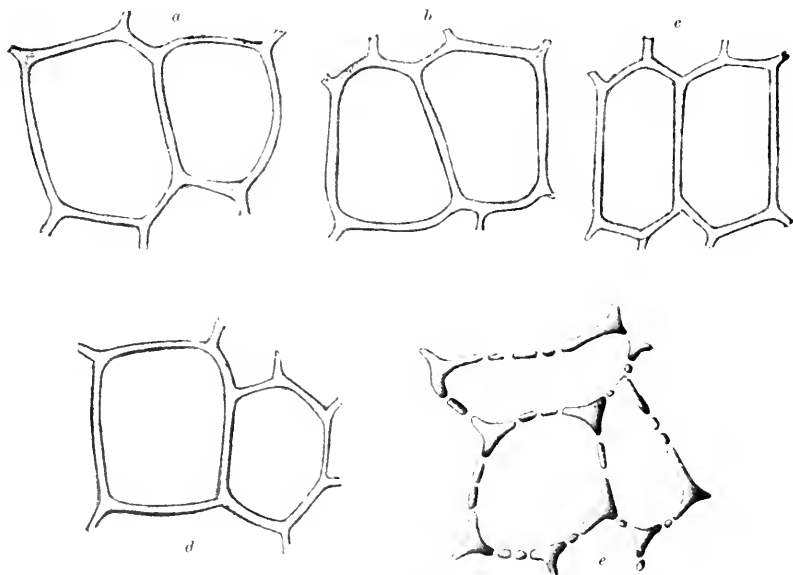


fig. 26.

1° a maglie tendenti alla forma rotondeggiante (frumento, orzo, fig. 26-a):

2° a maglie tendenti alla forma quadrangolare (segala, fig. 26-b):

3° a maglie tendenti alla forma quadrata o poliedrica (mais, riso, fig. 26-c):

4° a maglie ovalari ma irregolari (leguminose, fig. 26-d).

Riguardo allo spessore delle pareti il reticolo amilifero può presentarsi:

1° a pareti sottili (dura, riso, frumento, segala, orzo);

2° a pareti spesse (leguminose e mais).

Il reticolo amilifero è poi caratteristico nella dura e nelle leguminose:

1° per la presenza lungo le pareti del reticolo, di nodi rifrangenti piriformi (dura, fig. 26-e);

2° per la divisione del reticolo in tante concamerazioni da membrane perforate e per la presenza di lacune nei punti di divisione dei sepimenti (leguminose).

Riguardo alla resistenza del reticolo amilifero alla  $KOH$ , il Di Vestea ha potuto osservare che trattando il medesimo con tre soluzioni diverse di  $KOH$ , l'una al 2 ‰, l'altra al 5 ‰ e la terza al 10 ‰, si osserva che alcuni reticoli sono distrutti dalla  $KOH$  al 2 ‰, altri dalla  $KOH$  al 5 ‰, altri dalla  $KOH$  al 10 ‰, ed altri ancora resistono a quest'ultima soluzione.

È così possibile stabilire a mio avviso i quattro gruppi seguenti, piuttosto che tre, come originariamente è stato fatto:

TABELLA I.

Gruppi	Reticoli amiliferi	Potassa 2 ‰	Potassa 5 ‰	Potassa 10 ‰
I gruppo . . .	Frumento . . . . .	Distrutto rapid.		
	Orzo . . . . .	Id.		
	Segala . . . . .	Id. lent.		
	Avena . . . . .	Id. rapid.		
	Grano saraceno . .	Id.		
II gruppo . . .	Mais giallo e rosso.	Persistente	Distrutto lent.	
	Riso . . . . .	Id.	Distrutto	
III gruppo . . .	Mais bianco . . . .	Id.	Persistente	Distrutto
	Dura . . . . .	Id.	Id.	Id.
IV gruppo . . .	Leguminose . . . .	Id.	Id.	Persistente
	Saggina . . . . .	Id.	Id.	Id.

Dal modo di diportarsi dei vari reticoli di ciascun gruppo, si possono poi stabilire in qualche caso delle differenze: così il reticolo del frumento e quello della segala sono bensì distrutti ambedue dalla  $KOH$  al 2 ‰, però quello del frumento è distrutto rapidamente, anzi lo è già dalla  $KOH$  all'1,5 ‰, mentre quello della segala viene distrutto più lentamente e solo dalla  $KOH$  al 2 ‰.

3. *Esame microscopico dei peli.* — I peli si trovano nelle farine provenienti dai semi dei cereali, e benchè la loro ricerca non giovi sempre alla diagnosi, pure è sempre utile tentarla nei casi dubbi. Essi si ricercano raccogliendo le particelle che rimangono galleggianti sulla superficie dell'acqua versata in un bicchiere a calice in cui si siano gettati pizzichi di farina raccolta, dopo la setacciatura, sugli ultimi due setacci o prendendo un po' della schiuma che si forma facendo bollire 2 o 3 gr. di farina in 100 emc. di acqua ed esaminandola in una goccia di idrato di cloralio.

Nei peli si studia la lunghezza, lo spessore della parete, la larghezza del lume, la configurazione.

Riferendoci soltanto ai peli del frumento (fig. 27-*a*), della segala



fig. 27.

(fig. 27-*b*), dell'orzo (fig. 27-*c*), dell'avena, (fig. 27-*d*), eccone le dimensioni dalle quali si possono trarre poi i rapporti tra il lume e le pareti, rapporti che si crede generalmente abbiano grande valore nella diagnosi differenziale tra segala e frumento:



Lunghezza dei peli:

Frumento . . . . .	μ	120-800
Segala . . . . .	»	50-420
Orzo . . . . .	»	60-250
Avena . . . . .	»	1000



fig. 27.

Spessore dei peli:

Frumento . . . . .	μ	15-21
Segala . . . . .	»	9-17
Orzo . . . . .	»	8-20
Avena . . . . .	»	25

## Spessore delle pareti:

Fumento (più spesse della segala).	μ	7
Segala (meno spesse del frumento).	»	3-4
Orzo . . . . .	»	4
Avena. . . . .	»	10

## Larghezza del lume:

Fumento (meno largo della segala)	μ	2-4
Segala (più largo del frumento)	.	» 2-7
Orzo . . . . .	»	4
Avena. . . . .	»	8

Riguardo alla configurazione i peli sono generalmente rappresentati da cellule molto allungate terminate a punta e slargate alla base con lume interno naturalmente di forma conica. Quelli dell'orzo terminano per lo più a punta tronca, per cui fino a un certo punto è possibile distinguerli da quelli del frumento e da quelli della segala. Quelli di quest'ultima per il loro ampio lume non si possono confondere con quelli del frumento. In quanto a quelli dell'avena sono i più lunghi di tutti e i più grossi: presentano quindi dimensioni superiori a quelle di tutti gli altri peli.

I peli di altre cariossidi differiscono poi notevolmente da quelli descritti; così p. e. i peli della dura sono spesso a lume trasversalmente diviso, perchè pluricellulari.

4. *Esame microscopico della crusca.*

Quelle parti del seme che racchiudono il tessuto amilifero costituiscono la così detta crusca. Di questa se ne osserva sempre qualche traccia nelle farine anche le più fine, e la sua ricerca è specialmente importante nella diagnosi differenziale dei tre principali cereali: frumento, segala, orzo.

*Tecnica d'esame.* — Per esaminare la crusca è utile distendere la farina sopra un foglio di carta bianca in sottile strato, aiutandosi collo spigolo di un cartoncino e poi scegliere con una pinza i frustoli.

Questi potrebbero senz'altro esaminarsi al microscopio: però, come ha fatto rilevare il Di Vestea, capitando per solito di piatto, non possono di regola, comunque rischiarati, far rilevare distintamente quel complesso di note istologiche, che si impara a conoscere in tagli praticati perpendicolarmente alla superficie dei semi.

È meglio quindi praticare delle sezioni includendo la crusca in gelatina glicerinata aggiunta di un po' di acido fenico perchè non vi si sviluppino microrganismi.

All'uopo si raccoglie la crusca nel modo indicato e la si fa rigonfiare in acqua distillata nel fondo di una provetta, facendo bollire l'acqua per qualche minuto ovvero tenendola a bagnomaria a 50-55° per qualche tempo. Si versa quindi l'acqua della provetta, si radunano i frustoli di crusca, si spremono

fra due fogli di carta bibula e si gettano in una capsulina di vetro o di porcellana munita di beccuccio, nella quale si è messo in precedenza un po' di gelatina glicerinata fusa, e vi si lasciano stare a dolce calore per 1 ora. Poscia si versa la gelatina con la crusca in una doccia o in un canale a fondo cieco praticato in un midollo di sambuco; si lascia raffreddare e rapprendere la gelatina e poi si pone il midollo di sambuco nell'alcool a 85°-90°, che di regola dalla sera al mattino mette in grado di potere eseguire le sezioni o a mano o col microtomo. Le sezioni poste sul vetro portoggetti si riscaldano lievemente in modo da fondere la gelatina e da permettere di togliere il cerchietto di sambuco che sta tutt'attorno, si ricoprono con una goccia di gelatina glicerinata fusa che si copre col vetrino coproggetti e così sono pronte per lo esame, il quale va fatto all'ingrandimento di 40-50 diametri.

*Parti della crusca.* — Sezionando trasversalmente la crusca è possibile distinguere in essa una serie di strati comuni a tutti i semi che, seguendo i dettami della botanica, sono i seguenti: il *pericarpo* o *perisperma* (che costituisce le pareti del seme) distinto in tre strati: epicarpo; mesocarpo; endocarpo; lo *spermoderma* distinto come sempre in due strati, testa ed endopleura o tegmen; lo *strato delle cellule aleuroniche*.

Ora, gli strati suesposti, nelle crusche delle diverse cariossidi, presentano delle diversità che rendono possibile di poter stabilire a quale vegetale appartenga la crusca in esame.

Senza entrare in particolari e attenendoci ai soli caratteri differenziali che presenta ciascuna crusca, ecco quanto è strettamente necessario saper conoscere per potere stabilire a qual seme appartenga la crusca presa in esame.

*Crusca del frumento* (fig. 28). — L'epicarpo è caratterizzato da vari strati di cellule allungate a pareti spesse, giallo-brune.

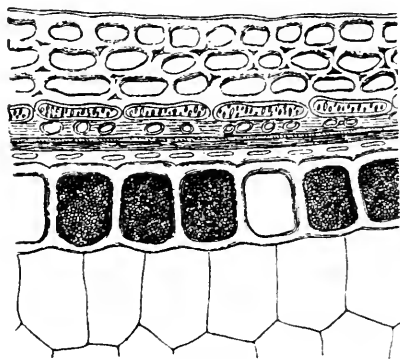


fig. 28.

Il mesocarpo è caratterizzato dalla presenza delle così dette cellule di cintura, che sono cellule giallicce grandi 154-192  $\mu$ , splendenti, punteggiate, piuttosto diritte o incurvate alquanto nel senso

del diametro minore della cariosside. Queste cellule sono comunemente ritenute caratteristiche dell'endocarpo, e allora il mesocarpo viene descritto risultante di vari strati di grandi cellule punteggiate costituenti un tessuto facilmente lacerabile sottostante agli strati dell'epicarpo. Però questa distinzione degli strati del pericarpo non è secondo quella data dai botanici (Strassburger per es.). Invece l'endocarpo è caratterizzato dalla presenza di qualche cellula otriculariforme: esso però nel seme adulto è poco o niente visibile.

Lo spermoderma ordinariamente si distingue in due strati: l'esterno detto bruno, e l'interno ialino: però realmente esso consta di tre strati: l'uno formato da una membrana sottile, scolorata, di aspetto omogeneo, l'altra di una membrana sottile, bruna, formata da cellule le cui pareti laterali non sono bene distinguibili e la terza di una membrana bianca molto rifrangente.

Lo strato delle cellule aleuroniche è costituito da grandi cellule poligonali viste di fronte, rettangolari viste di lato; questo strato è spesso  $\mu$  50-55.

*Crusca della segala* (fig. 29). — La struttura degli strati della crusca della segala è pressochè simile a quella del frumento, ne differisce però essenzialmente perchè lo *strato delle cellule di cir-*

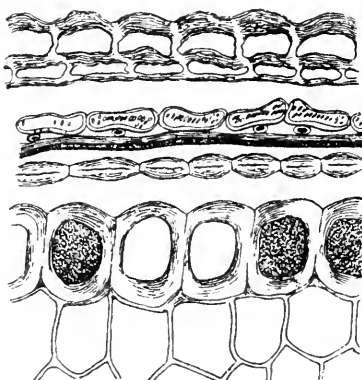


fig. 29

*tura* è formato da cellule allungate che si presentano incurvate verso lo esterno mentre quelle del frumento se si presentano incurvate, lo sono verso l'interno.

Dippiù lo spessore della crusca è almeno di  $\frac{1}{3}$  inferiore a quello del frumento: difatti quella del frumento misura  $\mu$  110-120, mentre quella della segala misura  $\mu$  95-100 in media (Di Vestea).

*Crusca dell'orzo* (fig. 30). — La struttura degli strati della crusca dell'orzo diversifica da quella del frumento per la presenza sul pericarpo dei residui delle glume, cioè di protuberanze coniche

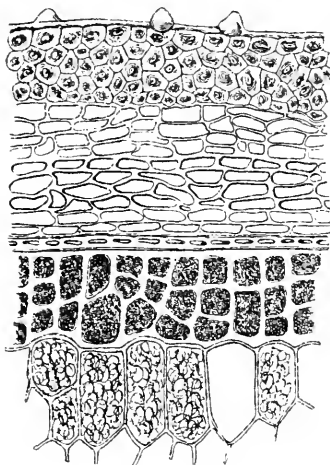


fig. 30.

per l'impianto dei peli, nonchè per la presenza di un triplice strato di cellule aleuroniche, mentre nel frumento e nella segala questo strato è costituito da un solo filare di cellule.

*Crusca del mais* (fig. 31). — È specialmente caratteristica per-

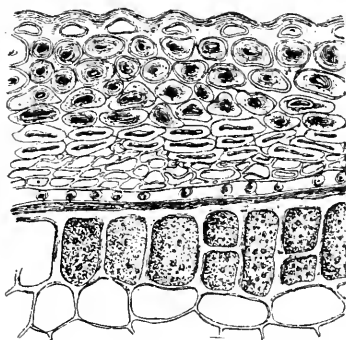


fig. 31.

chè il pericarpo è rivestito di uno strato ondulato per la presenza di cellule a parete spessissima a lume largo, sotto le quali trovansi delle cellule fusiformi a lume stretto. In quanto allo strato spermodermico è pochissimo sviluppato e non presenta niente di carat-

teristico. Lo strato delle cellule aleuroniche generalmente è unico ma può mostrarsi anche doppio.

*Crusca dell'avena* (fig. 32). — È caratterizzata dal perchè ad essa stanno adesi frammenti delle glume del seme, costituiti da uno strato esterno di cellule a pareti spesse ondulate, incastrate le une

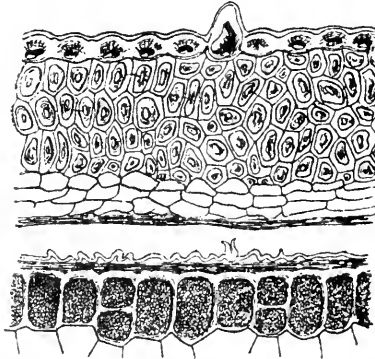


fig. 32.

nelle altre, sul quale si trovano o cerchietti che rappresentano i punti ove erano impiantati i peli o i peli stessi essendo questi di-

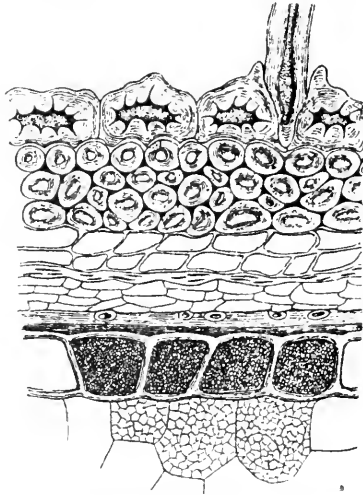


fig. 33.

istribuiti su tutta la superficie del seme. Seguono poi vari strati di cellule fusiformi, un parenchima a pareti sottili nel quale si può trovare clorofilla. Lo spermoderma è sottile e bruno, lo strato delle

cellule aleuroniche è unico. Lo spessore della crusca è di 50  $\mu$  in media (Di Vestea).

*Crusca del riso* (fig. 33). — È caratterizzata per lo più dal solo strato spermodermico costituito di cellule rettangolari o irregolari o allungate a pareti sottili e dallo strato ialino. Quando si trovano anche le glume del seme, queste sono formate sia da uno strato di cellule a parete molto spessa irregolarmente cubiche a lume grande con insenature, fra le quali cellule stanno incastrati i peli, sia da cellule fusiformi in vari strati.

*Crusca del grano saraceno* (fig. 34). — È caratterizzata dalla presenza, procedendo dallo esterno all'interno di uno strato di cellule a parete spessa e a lume grande come nel mais, di vari

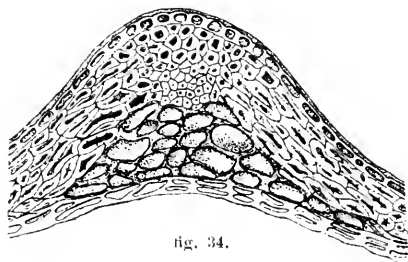


fig. 34.

strati di cellule fusiformi a lume stretto e parete spessa, di vari strati di cellule grandi a pareti sottili che si trovano negli angoli del seme e che costituiscono quello che comunemente chiamasi parenchima: in questo tessuto si nota la presenza di fasci vascolari a spirale. Segue lo spermoderma formato da cellule rettangolari sottili costituenti una membranella.

*Crusca della dura* (fig. 35). — L'epicarpo è rappresentato da

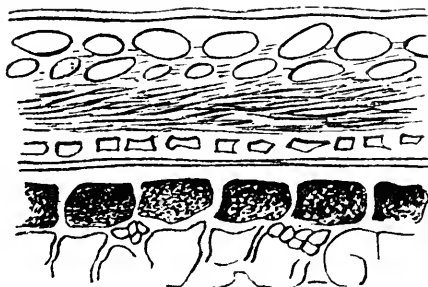


fig. 35.

una cuticola sottile e priva di percettibile organizzazione. Il mesocarpo è formato da due sovrapposti filoni di cellule a grosse

pareti allungate nel senso della direzione della lunghezza del seme: hanno forma tubulare, contorni ondulati e sono ricche di pori disposti generalmente lungo la linea mediana del loro asse maggiore.

L'endocarpo è formato da cellule di spessore variabile a contorni non ben definiti: in sezione longitudinale si riconoscono però per fibre. Lo spermoderma consta di quattro strati, due di cellule tubulari lunghe e sottili, due rappresentati da due sottili membrane probabilmente corrispondenti allo strato ialino e bruno della crusca del frumento (Tortelli).

† *Crusca delle leguminose* (fig. 36). — La crusca delle leguminose, presenta un primo strato di cellule molto allungate disposte

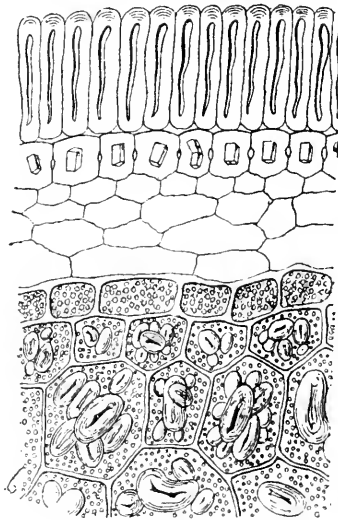


fig. 36.

nel senso dell'asse minore del seme o *strato delle cellule a palizzata*: un secondo *strato delle cellule così dette prismatiche* perchè formate da cellule allungate di forma prismatica addossate le une alle altre e contenenti cristalli di ossalato di calcio; un terzo *strato delle così dette cellule stellate* perchè formato di cellule irregolari o raggiate con spazi fra di loro; dallo strato spermodermico formato da un filare di cellule irregolarmente quadrangolari punteggiate o *strato parenchimatoso* e da uno strato di cellule rettangolari o *epidermide inferiore*.

Di guisa che riunendo assieme i caratteri principali coi quali è lecito diagnosticare la specie di una crusca, ne risulta:



1° che la *crusca del frumento* ha di caratteristico la presenza di uno strato di cellule di cintura allungate dritte o leggermente curve verso l'interno;

2° che la *crusca della segala* ha di caratteristico la presenza di uno strato simile ma con le cellule a semiluna presentanti la loro curvatura rivolta all'esterno;

3° che la *crusca dell'orzo* ha di caratteristico specialmente la presenza di un triplice strato di cellule aleuroniche e la eventuale presenza della gluma;

4° che la *crusca del mais* ha di caratteristico la presenza sul perisperma di una cuticola a superficie ondulata formata da un primo strato di cellule a parete molto spessa e a lume largo;

5° che la *crusca della dura* ha di caratteristico le cellule ricche di pori lungo la loro linea mediana, e lo spermoderma composto di quattro strati;

6° che la *crusca del grano saraceno* ha di caratteristico i molti strati delle cellule dell'epicarpo varie per forma e dimensione;

7° che la *crusca dell'avena* ha di caratteristico la presenza di un primo strato di cellule incastrate le une nelle altre con dei cerchietti fra di loro rappresentanti i punti di inserzione dei peli o coi peli stessi ivi impiantati;

8° che la *crusca del riso* ha di caratteristico, quando si trovano i resti delle glume, la presenza di un primo strato di cellule irregolarmente cubiche a pareti spesse e lume sfrangiato fra le quali sono incastrati i peli;

9° che la *crusca delle leguminose* presenta di caratteristico lo strato delle cellule a palizzata, oltre poi allo strato delle cellule prismatiche con cristalli di ossalato di calcio ecc.

Naturalmente nelle farine possono trovarsi altri frustoli non appartenenti alle crusche descritte.

Così per es., potranno trovarsi *frammenti di buccia di patate* dei quali si parla a pag. 82 o i *frammenti della buccia delle castagne* e propriamente dell'en-

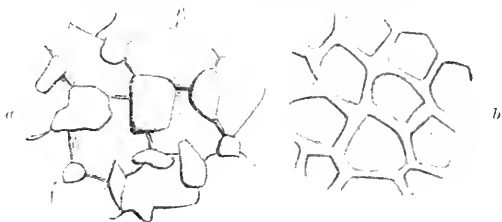


fig. 37.

dopleura o buccia interna. Questi frammenti esaminati al microscopio si presentano formati da cellule pentagonali o esagonali brune irregolari e riunite

da prolungamenti nella castagna amara (*aesculus hippocastanum*) (fig. 37-a) saldate insieme nella castagna mangereccia *castanea vesca* (fig. 37-b).

Finalmente si potranno anche trovare, specialmente nelle farine che servono di alimento agli animali, dei corpuscoli angolosi vitrei rosso-cupi i quali sezionati presentano un primo strato formato da grandi cellule quadrangolari a pareti sottili, un secondo strato di cellule irregolari poco distinte, con uno strato di cellule allungate e poi uno strato di cellule poligonali quadrangolari contenenti una sostanza bruna, ecc. (fig. 38): questa struttura è propria del *linum usitatissimum*.

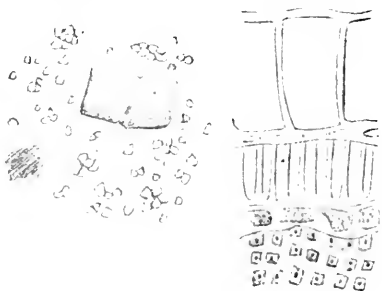


fig. 38.

2. ESAME PER RICONOSCERE SE IN UNA FARINA ESISTANO ELEMENTI APPARTENENTI A SEMI NOCIVI. — Quando il grano non è stato bene vagliato ovvero quando è stata commessa una frode, si può trovare nella farina traccia dei così detti *semi eterogenei*, di cui alcuni sono realmente dannosi alla salute perchè causa di disturbi nervosi e gastro-enterici.

I semi eterogenei che più comunemente si trovano mescolati alle farine sono:

il lolio (*lolium temulentum*): il niello (*agrostemma githago*); il melampiro (*melampyrum pratense* s. *arvense*); il latiro (*latyrus aphaca* et *elimenus*); la veccia (*ricia sativa*); la saggina (*sorghum vulgare*); il delfinio (*delphinium consolida*); il rafano selvatico (*raphanus raphanistrum*); il rinanto (*rinantus maior* et *minor*); l'atreplice (*atreplex austata*).

La ricerca di questi semi si fa sia col semplice esame microscopico della farina sia con ricerche microchimiche.

*Coll'esame microscopico*: 1° data la presenza di lolio, si noteranno i così detti corpuscoli del lolio, ossia dei corpi grandi 20-50  $\mu$  rotondi o reniformi formati da un mosaico di granuli poliedrici addossati gli uni agli altri e grandi 3  $\mu$  in media (fig. 39), nonchè frustoli di crusca che hanno molta rassomiglianza con quelli del frumento, ma che se ne distinguono per alcune partico-

larità, come per il colorito giallo-verdastro a riflessi violacei del pericarpio, per lo spessore di 70  $\mu$ , ecc. In pratica del resto può

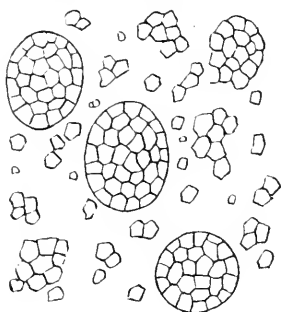


fig. 39.

togliere ogni dubbio il trovare, dopo trattamento dei frustoli con potassa al 10%, fra lo spermoderma e lo strato delle cellule aleuroniche, il micelio di un fungo, fatto questo che non si trova mai nella crusca del frumento.

A questo fungo si è attribuita di recente molta importanza poiché alcuni credono che l'azione tossica (che si esplica con la produzione di vertigini) che produrrebbe il lolio, e quindi la produzione della sostanza tossica detta temulina, sia dovuta al fungo stesso. Il fatto che solo il *lolium temulentum* ha quest'azione, e che altre graminacee come la segale producono vertigini quando la loro carioside è invasa da un micelio analogo, confermerebbe questa ipotesi e indurrebbe a sospettare che si tratti di un unico parassita, che secondo il Ludwig sarebbe la *ciboria strumantina s. temulenta*.

2° data la presenza di *niello* o *gittazione*, si noteranno i così detti corpuscoli amidacei dell'agrostemma (fig. 40-*b*) ossia dei corpi

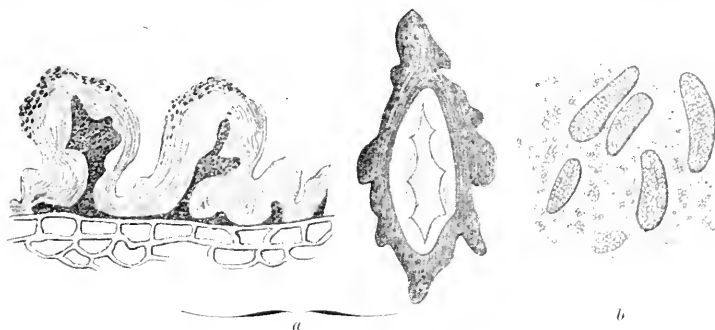


fig. 40.

allungati cuneiformi finamente punteggiati per la presenza di finissimi granuli di amido, i quali si disgregano quando i corpi amidacei vengono trattati con l'acqua e si vedono muoversi nel liquido con

movimento browniano, nonchè per quella di frustoli di crusca, che, sezionati, mostrano alla periferia delle protuberanze, le così dette villosità dell'agrostemma, pressochè coniche, rappresentanti in sezione gli aculei che trovansi sulla superficie del seme (fig. 40-a).

Le farine niellate si giudicano insalubri al limite di 0,50 %. Il Di Vestea, consiglia perciò di distendere la farina col metodo Pratesi e di raccogliere pazientemente, dopo spruzzatura col liquido Vogl, i punti neri reperibili in 5-6 quadratini di 4 cm. di lato, servendosi di apposito cartoncino portante appunto una perdita di sostanza di 16 cm<sup>2</sup>. Egli ha veduto che una farina niellata al 0,50 % lascia pescare sopra una superficie di 16 cm<sup>2</sup>, in media 5 frammentini di perisperma chiaramente identificabili, ed ha concluso col dire che si giudicherà la farina insalubre o nociva quando trovansi di quegli elementi in ogni campo di 16 cm<sup>2</sup>, in numero non minore di 2-3.

3° data la presenza di *metampiro* (fig. 41), si noteranno, frustoli di crusca, che alla sezione presentansi formati da uno

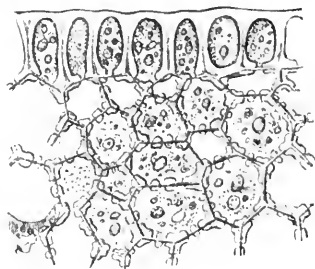


fig. 41.

strato cuticolare giallo-bruno, sotto al quale si trovano cellule poligonali a grosse pareti e poi un reticolo cotiledonare rosso-bruno a maglie poliedriche coi sepimenti che sono formati da cellule ialine, quadrangolari, disposte simmetricamente, contenenti una sostanza protoplasmatica grigia e delle goccioline di olio;

4° data la presenza di *latiro* o di *veccia*, si noteranno anzitutto nella farina, granuli di leguminose e frammenti di crusca con le note caratteristiche di quella delle leguminose. Per fare la diagnosi di *latiro* o di *veccia* gioverà però ricordare:

a) per il *latiro*: che il pericarpio presenta delle macchie nere, marmorizzate o variegate di rosso e nero su fondo sporco, macchie che al microscopio presentansi violette; che lo spessore dello strato delle cellule a palizzata è di 60-63  $\mu$ ; che quello delle cellule prismatiche è di 47  $\mu$ ; che lo spessore dello spermoderma

è di 15  $\mu$ ; che lo spessore della crusca è di 180  $\mu$ ; che la grandezza dei granuli è di 25  $\mu$  o di 40  $\mu$  senza grandezze intermedie, e che il reticolo amilifero presentasi a maglie pentagonali, grandi 50  $\mu$ , resistente alla potassa al 10 % e racchiudente i granuli avvolti in una massa granulosa colorabile in giallo coll'iodio;

b) per la *veccia*: che il pericarpio ha colorito marrone seuro con macchie nere; che è rivestito allo esterno di una cuticola delicatissima; che lo spessore delle cellule a palizzata è di 55-60  $\mu$ ; che quello delle cellule prismatiche è di 25-30  $\mu$ ; che quello dello spermoderma è di 20-25  $\mu$ ; che quello della crusca è di 100  $\mu$ ; che la grandezza dei granuli è di 28-30  $\mu$ ; ossia intermedia tra i granuli piccoli e i grandi del latiro e che il reticolo amilifero è a maglie esagonali più lunghe di quelle del latiro, cioè 80-95  $\mu$ ;

5° infine la presenza di *saggina*, di *delfinio*, di *rafano selvatico*, di *rinanto* e di *atreplice* si può anzitutto supporla agevolmente perchè le farine in tali casi sono alterate nei loro caratteri organolettici. Per es., *Atreplice*, che si suole aggiungere in Russia alla farina di grano nei tempi di carestia, si riconosce anche senza alcun aiuto del microscopio dal colorito grigio e persino nero, che impartisce al pane (il così detto pane della fame). Questi semi non sembrano produrre, almeno sinora, alcun disturbo all'organismo, salvo il *delfinio* il quale oltre a dare alle farine sapore acre e disgustoso è dimostrato essere nocivo. La diagnosi di questi diversi semi si fonda essenzialmente sui caratteri della crusca ed è resa più alla mano dalle ricerche microchimiche.

La crusca del *delfinio* è costituita da un perisperma rivestito di aculei ed ha la stessa costituzione di quella del grano saraceno: l'ovario è costituito da un reticolo a maglie esagonali con goccioline di olio senza amido (Terni).

La crusca del *rafano* presenta un perisperma giallo-oro formato da una pellicola rugosa, da uno strato di grandi cellule pavimentose pentagonali e poi da una membrana crivellata di fori sotto cui trasparence lo strato delle cellule pigmentate. L'albume è giallo-zolfo a maglie ovoidali e poligonali contenenti zone di sostanze oleose prive di amido.

La crusca del *rinanto* ha il perisperma con la parte esterna costituita da uno strato di cellule allungate e sottili, e subito sotto vi è l'albume a maglie quadrangolari a contenuto granuloso, senza amido (Terni).

*Coll'esame microchimico* occorre far precedere lo esame microscopico dalla azione di reagenti. Usansi all'uopo il reattivo del Vogl (alcool a 70° p. 100 e acido cloridrico p. 5), nonchè la potassa al 10 % e l'acido solforico al 10 % sempre in alcool a 70° (Terni).

*Procedimento col reattivo del Vogl.* — Seguendo il metodo Pratesi-Di Vestea « sopra di un comune piatto bianco a superficie levigata, si distende una piccola quantità di farina (5-10 gr.) in strato sottile, aiutandosi con lo spigolo di un cartoncino a renderlo quanto è più possibile uniforme. Quindi lo si asperge con la miscela di Vogl che riesce comodo di tenere in uno spruzzino di vetro, il cui turacciolo sia traversato da un solo cannello di vetro tirato a sottile pipetta, avendo cura di bagnare lo strato di farina in maniera uniforme. Ciò fatto si riscalda il piatto al di sopra di una fiamma, sino alla prima comparsa di vapori e si aspetta alquanto per vedere comparire qua e là delle piccole aree di colorazione, ovvero il mettersi in evidenza e moltiplicarsi a vista dei punticini nerastri. »

La comparsa dei *punti nerastri* guida alla ricerca del *niello*, *delfinio*, *veccia*, *acari*; la comparsa di chiazze, colorate generalmente in *rosso* o *violetto* o *azzurro*, fanno dubitare della presenza della *segala cornuta*. *lolio*, *latiro*, *saggina*, *dura*, *faggiolo*, *melampiro*, ecc.

Tutti questi diversi elementi si raccolgono sulla punta di un ago per farne l'esame microscopico, osservandoli in una goccia di acqua o di glicerina al 50 %, comprimendo leggermente il coprogetti, a piccolo ingrandimento (acari, villosità dell'agrostemma) e se occorre a forte (segala cornuta).

Va qui notato che originariamente la ricerca dei semi eterogenei si praticava seguendo il metodo del Vogl e più tardi quello del Pratesi, che per quanto più delicato non raggiunge però la delicatezza del metodo Di Vestea, non essendo, come quello del Vogl, associato allo esame microscopico. Il Vogl trattava 2 gr. di farina con 10 cmc. del suo reattivo e se otteneva una colorazione giallo-aranciata del liquido che si separava dal deposito della farina, lasciando in riposo la provetta, affermava che nella farina trovavasi del *gittaione*, mentre se otteneva una colorazione rosea, che si modificava in verde con l'aggiunta di alcali, affermava che vi si trovava del *lolio*. Siccome però il reattivo del Vogl usato in tale modo riesce a scoprire il *gittaione* solo quando trovasi mescolato alla farina almeno al 5 % e il *lolio* almeno all'8 %, il Pratesi consigliò di distendere la farina in sottile strato sopra un piatto di porcellana, bagnarla col reattivo del Vogl e osservare se si notava la presenza di punti rosei i quali starebbero a indicare la presenza di frustoli di *lolio*, ecc.

*Procedimento con la potassa al 10 % e l'acido solforico al 10 %.* — Anzi-tutto, si possono, distesa la farina secondo il metodo Pratesi, spruzzare due preparazioni, l'una col liquido di Vogl, in cui all'acido viene sostituita la potassa al 10 %, e l'altra con lo stesso reattivo sostituendo all' $HCl$ , l' $H^2SO^4$ . Così, secondo il Terni, si mettono subito in evidenza quali elementi reagiscono alla potassa o all'acido o ad ambedue i reattivi, e quali rimangono inalterati nelle loro tinte. Si possono anche raccogliere con qualsiasi metodo dei frustoli di crusca, e postili in acqua distillata e messo a fuoco il preparato (osservandolo a debole ingrandimento), porre ad un lato del vetrino coprogetti un pezzetto di carta bibula in modo da stabilire una corrente di liquido dal preparato, e dall'altro sostituire goccia a goccia la soluzione di potassa o d'acido solforico.

Con questi trattamenti il Terni ha notato che in generale coll'alcali i pigmenti reagiscono con una gradazione di tinte dal giallo-verdastro al verde sino all'azzurro intenso e coll'acido dal rosa pallido sino al rosso scarlatto e al rosso mattone e ha potuto stabilire il quadro seguente nel quale trovansi indicate le colorazioni assunte dal perisperma dei più diversi semi dopo il trattamento microchimico.

Però, per quanto consta dalla mia esperienza, non bisogna credere che le colorazioni indicate dal Terni per i pericarpi dei vari semi siano in tutti i casi assolutamente specifiche: si da affermare che un dato frustolo appartenga certamente ad un seme piuttosto che ad un altro, perchè in alcuni casi non le ho trovate corrispondenti a quelle indicate nella tabella: per conto mio sono d'avviso che queste ricerche necessitino di ulteriori e più numerosi controlli.

TABELLA 2.

Seimi	Colore normale del perisperma	Potassa 10 %	Acido solforico 10 %
Frumento	giallo pagliarino	giallo: leggera colorazione verdastrea delle cellule di cintura	giallo: leggera colorazione rosea delle cellule di cintura
Orzo	id.	id.	id.
Segala	id. più colorato lo strato delle cellule di cintura	giallo verdastro: colorazione verde chiara delle cellule di cintura	giallo non pallido; più colorite le cellule di cintura
Avena	giallo pagliarino	verde chiaro più intenso nell'endocarpio; distinta colorazione dei peli e della cuticola del pericarpio	giallo rosa pallido
Mais (giallo e rosso)	giallo	giallo verdastro; il reattivo estrae il colore anche dall'amido	nessuna reazione
Mais (bianco)	giallo pallido	giallo verdastro; nessuna reazione dell'amido	nessuna reazione
Riso	incolore o leggermente colorato in alcuni punti in marrone	nessuna reazione o leggermente verde chiaro	nessuna reazione
Grano saraceno	color giallo scuro	giallo verde chiaro	giallo chiaro
Dura	giallo rosso cinabro	inalterato; si colorano in verde lo spermoderma, le cellule aleuroniche e l'embrione; il reattivo estrae il color verde	inalterato
Panico	giallo verdastro	verde chiaro	giallo rosa
Milto	giallo	giallo	giallo rossastro
Lolio	giallo verdastro	verde chiaro, verde erba persistente	rosa e rosso ciliegia e rosso fucsina persistente



Semi	Colore normale - del perisperma	Potassa 10 %	Acido solforico 10 %
Agrostemma	bruno marrone	nessuna reazione; il reattivo colora l'amido in giallo verdastro e ne estrae il colore	nessuna reazione; accentua leggermente il colore marrone
Dellinio	nero (assenza di amido - colorazione gialla delle bolle di olio con tintura di jodio)	nessuna reazione	nessuna reazione
Rafano selvatico	giallo d'oro (assenza d'amido)	giallo rossastro	giallo con riflessi verdastri
Rinanto	grigiastro (colorazione gialla con tintura di jodio)	giallo aranciato	nessuna reazione
Melampiro	giallo chiaro	nessuna reazione	id.
Latiro	grigio a macchie violacee e nere	azzurro intenso e verde mare (fugace)	rosso vinoso e rosso violetto persistente
Veccia	marrone con macchie nere	marrone e giallo; macchie viola scuro	nessuna reazione
Sorgo	rosso marrone	rosso giallastro; il reattivo estrae il colore senza alterarne la tinta; colora in verde pallido lo spermoderma e le cellule a glutine	colorito rosso più brillante
Atreplice	marrone	nessuna reazione	rosso bruno
Fagiuolo	variabile	verde chiaro che si converte in azzurro	rosso carminio che si converte in marrone
Segale cornuta		violetto persistente	nessuna reazione

3. ESAME PER RICONOSCERE SE AD UNA FARINA SIANO MESCOLATE FARINE INFERIORI, FECOLE, SEGATURA DI LEGNO, POLVERI MINERALI. — 1. *Mescolanza con farine inferiori.* — Le diverse operazioni necessarie per giungere alla diagnosi sono le seguenti:

1° Esame microscopico dell'amido dal deposito formatosi in un bicchiere a calice pieno di acqua nel quale si sono gettati pizzichi della farina in esame:

2° Esame microscopico previa separazione meccanica degli amidi la quale si fa mediante quell'operazione che è intesa *levigamento dell'amido*.

A tal uopo si impastano 10 grammi della farina sospetta, si pongono entro una pezzuola i cui capi si legano mediante un filo, e poi si sottopone il sacchetto ad uno stillicidio di acqua, raccogliendo il liquido in un bicchiere a calice, fino a che se ne è formata una quantità da 50 a 80 cmc. Si agita e si versa il liquido in un secondo bicchiere: si lascia riposare il liquido fino che sia fatto un po' di deposito, poi si decanta in un terzo bicchiere e, formatosi un deposito si decanta in un quarto e, ove sia necessario, si ripete l'operazione in un quinto. Così si riescono a separare fino a un certo punto i granuli di amido di differente peso, cioè i più pesanti nel primo bicchiere, i meno nel secondo e così di seguito.

3° Esame microscopico del reticolo cotiledonare e quindi raccolta delle massette che rimangono dopo la *stacciatura della farina*: trattamento delle medesime con potassa all'1 % e osservazione successiva in glicerina diluita;

4° Esame dei frustoli che rimangono a galla in un bicchiere pieno di acqua nel quale siasi versata della farina, per vedere se fra essi si trovano dei peli:

5° Distensione della farina sopra un foglio di carta o piatto bianco verniciato in sottile strato, ricerca dei frustoli di crusca, inclusione in gelatina glicerinata, sezionamento e osservazione:

6° Distensione come sopra, e prova microchimica colla potassa e con l'acido solforico, ricorrendo alle tavole del Terni per i risultati, senza però attribuire assoluta specificità alla colorazione ottenuta.

I casi speciali che più facilmente si presentano, sono la mescolanza alla *farina di frumento, di quelle di mais bianco, di leguminose, di segala, di orzo, di grano saraceno, di dura, di avena, di riso.*

*Procedimenti per riconoscere la farina di mais aggiunta a quella di frumento.*

A tal uopo lo Selavo mise a profitto l'esame polariscopico. Egli fece rilevare che non tutti i corpuscoli dell'amido di mais bianco sono attivi alla

luce polarizzata e precisamente i globosi grandi e i globosi e poliedrici piccolissimi: però quelli di media grandezza (15-20  $\mu$ ), mostrano sempre in campo oscuro una croce nera spiccatissima con le branche disposte l'una normalmente all'altra. Ora di fronte al frumento questa proprietà sarebbe molto più spiccata, perchè è ben vero che le forme di media grandezza di quest'ultimo mostrerebbero più netta in campo oscuro la croce nera; ma non mai così spiccata come quelle dei corpuscoli del mais. Dippiù nei primi le branche della croce di solito si presenterebbero inclinate l'una sull'altra formando in alcune un vero X: solo qualche volta sarebbero disposte in posizione verticale come nel mais.

Il Baumann invece tratta i preparati di farina con potassa all'1,8% la quale distrugge i corpuscoli di frumento lasciando quelli di mais.

Però tanto il metodo dello Selavo quanto quello del Baumann e consimili non servono a ricercare i granuli di mais quando si trovano in piccola quantità di farine.

Noi (Casagrandi e Clavenzani) ci serviamo di un procedimento col quale abbiamo cercato:

1° mettere in evidenza la presenza anche di pochi granuli di mais in grandi quantità di farine, eliminando, prima di fare preparati microscopici, dalle farine medesime qualunque traccia di amido di frumento, segala, orzo;

2° riunire in un solo procedimento tutti i dati necessari per una diagnosi sicura, in modo da non dover ricorrere a ricerche comparative.

All'ipò bisogna operare su grande quantità di farina in modo da poter trovare più facilmente i granuli di mais che vi potessero essere frammenti.

Si prendono quindi da 30 a 50 grammi del campione di farina in cui si sospetta la presenza dell'amido di mais, si impastano con acqua e si pongono in una pezzuola che viene sottoposta ad uno stillicidio di acqua, come si fa per levigare l'amido. Però, a differenza dell'ordinario modo di procedere, non si sospende l'operazione allorchè si sono raccolti da 80 a 100 emc. di liquido in un bicchiere a calice; si prosegue invece sino ad ottenere una quantità assai maggiore di liquido. Si lascia riposare il materiale in bicchiere a calice per varie ore, favorendo, ove si creda opportuno, la deposizione dei granuli di amido, col sostituire alla precipitazione naturale quella mediante la centrifugazione; indi si decanta il liquido.

Al deposito così ottenuto viene aggiunta una certa quantità di uno degli acidi minerali sopra indicati nelle proporzioni stabilite (v. pag. 48), che si lascia agire per pochi minuti (in genere è consigliabile di non raggiungere i 5') e si arresta l'azione dell'acido coll'aggiunta di abbondante acqua distillata.

Dopo aver lasciato riposare il materiale in bicchiere a calice almeno per mezz'ora, si decanta e si osserva. Sotto al campo del microscopio, se l'operazione è riuscita, debbono osservarsi i granuli del frumento, orzo e segala pallidi, molto rigonfiati, senza alcuna rifrangenza, per il quale aspetto, analogamente a quello delle emazie scolorate, noi diamo ai granuli, così trasformati, il nome di *ombre di granuli*.

In mezzo a queste ombre si noteranno gli aggruppamenti dei corpuscoli amilacei del mais, che hanno l'aspetto caratteristico a pavimento e che sono

formati in gran parte dai grossi granuli del mais alquanto rigonti e deformati (specialmente quelli periferici). I medi ed i piccoli granuli di mais inalterati, o tutt'al più coll'ilo reso maggiormente evidente, spiccheranno moltissimo per la loro forma e per la loro rifrangenza.

Un tale reperto è certamente sufficiente per riconoscere il mais nella farina di frumento: qualora solo non fosse possibile rinvenire i granuli medi di mais, ma si notassero soltanto gli accumuli a pavimento dei granuli grandi, si può avvalorare la diagnosi coll'esame polariscopico, come consiglia lo Sclavo.

Però l'esame polariscopico con questo metodo non riesce bene se non quando si distrugge l'amido di frumento, segala ed orzo per mezzo della potassa, in quanto che lo stesso procedimento, fatto per mezzo degli acidi, non permette la formazione perfetta della croce.

In ogni caso, qualora non sia possibile applicare il metodo polariscopico perchè gli ammassi sono troppo alterati, noi consigliamo di aggiungere, sotto al campo del microscopio, una soluzione diluita di uno dei colori di anilina che colorano i grani di mais. In tal caso si noterà che questi ammassi si colorano, mentre le ombre dei granuli rimangono lievemente tinte.

Con questo procedimento si notano anche dei particolari di un certo interesse. Così adoperando per esempio la soluzione acquosa satura di rosso di Magdala, si noterà che i granuli di mais assumono un colorito rossastro che tende al violetto, mentre invece le ombre dei granuli, rimangono tinte in rosa un po' carico. In genere, specialmente negli ammassi dei granuli, sono i contorni dei granuli stessi che appaiono più colorati.

Qualora poi l'amido di mais sia aggiunto alla farina di frumento in quantità notevole, questo metodo si può semplificare e rendere possibile la diagnosi del mais anche senza microscopio.

A tal uopo dopo aver trattato cogli acidi, il deposito ottenuto col levigamento dell'amido, noi consigliamo di aggiungere addirittura nel bicchiere a calice la soluzione colorante (che è meglio sia di colori che anche in soluzioni acquose sature la lasciano trasparente: per esempio il rosso di Magdala, il giallo-acido) lasciandola agire circa mezz'ora, ed agitando ogni tanto. Trascorso questo tempo si lascia riposare il materiale, si decanta il liquido, si aggiunge acqua e si osserva se nel deposito si sono formati dei piccoli grumi colorati. Data l'esistenza di questi ultimi, si può ritenere che alla farina di frumento sia stato mescolato il mais, perchè questi ammassi sono appunto formati da granuli di mais. L'esame microscopico, che si può fare per controllo, può suggellare la diagnosi.

Ad ovviare poi l'inconveniente che coll'aggiunta di acqua i granuli si decolorino, noi consigliamo di aggiungere un liquido il quale conservi i colori di anilina, e per questo in luogo della soluzione acquosa satura di acetato potassico che, attesa la sua densità, non permette che i granuli d'amido si depositino presto, consigliamo l'uso del liquido Ripart e Petit.

Questo liquido ha la seguente composizione: acqua canforata gr. 75; acqua distillata gr. 75; acido acetico glaciale gr. 1; acetato di rame gr. 0.30; cloruro di rame gr. 0.30.

Anzi noi coloriamo addirittura con sostanze coloranti sciolte invece che in acqua, nel liquido suddetto poi avvenuta la colorazione, decantiamo, agguingiamo il liquido puro, lasciamo riposare ed esaminiamo macroscopicamente e microscopicamente il deposito.

*Procedimenti per riconoscere le farine di leguminose aggiunte a quella di frumento.*

In quanto all'aggiunta di *farina di leguminose* a quella di frumento, bisogna anzitutto non credere sofisticazione, ciò che invece può essere una qualunque casualità, poichè come bene si esprime il Valenti, è noto che in una farina di frumento anche la meglio lavorata si può trovare all'esame microscopico qualche granulo di leguminose, specie di vecchia, poichè non sempre si riesce a vagliare i grani in modo assoluto dalle stesse, ed a questo bisogna ben badare quando si debbano fare delle perizie per non esser tratti in errore credendo trattarsi di un'aggiunta fraudolenta quando questa in realtà non esiste.

A tal uopo si può cominciare col prendere un grammo della farina da esaminare: lo si agita in una provetta da saggio con 10 cmc. di una soluzione a parti eguali di acqua distillata ed acido solforico puro concentrato, appena però si è fatta la mescolanza e c'è ancora sviluppo di calore. Dopo alcuni minuti si osserva che il materiale ha acquistato un colorito giallastro e il liquido ha preso una consistenza sciroposa.

Se la farina è di leguminose, rapidamente il liquido acquista un colorito roseo, che mano a mano va facendosi sempre più intenso fino a divenire rosso-vinoso. Di più si forma alla superficie uno strato denso costituito da quasi tutta la farina esaminata.

Se la farina al contrario è di frumento puro, acquista dopo un tempo più lungo che nel primo caso una lieve colorazione rosea, che mantiene immutata anche per dodici ore, non raggiungendo così il colorito rosso-vinoso caratteristico della farina di leguminose. Tutta la farina inoltre si discioglie nella soluzione, dimodochè nulla rimane galleggiante alla superficie del liquido.

Se la farina finalmente risulta costituita dalla mescolanza di leguminose e frumento, il liquido, anche quando le proporzioni di farina di leguminosa aggiunta sia del 4 %, assume rapidamente una colorazione, che da rosea, diventa dopo quindici minuti circa, di una tonalità rosso-vinosa non però tanto carica come nel primo caso.

Le due farine si riescono a differenziare, perchè quella di leguminose galleggia, mentre quella di frumento si scioglie.

Si può anche adoperare il metodo del Vogl ed a tal uopo si prendono 2 gr. della farina e si trattano con 10 cc. del reattivo, si agita e poi si lascia in riposo. Se il liquido si colora in rosso porpora, vuol dire che la farina contiene leguminose.

Però con questo metodo non si può stabilire quanta sia la farina di leguminose aggiunta, mentre con quello del Valenti pare si possa invece stabilire sino al limite del 4 %, rimanendo però incerto se le dosi sono minori.

In tale caso si ricorre all'esame microscopico col quale non basta ricercare i granuli d'amido, perchè si possa scoprire la frode, ma i reticoli cotiledonari, dal numero dei quali la diagnosi può essere avvalorata.

Dagli studi del Di-Vestea si conosce la resistenza differente, che hanno il reticolo cotiledonare della farina di frumento e quella di leguminose trattati con soluzione di potassa caustica: in una soluzione all'1,5 % il reticolo cotiledonare del frumento si distrugge in pochissimo tempo, mentre quello delle leguminose non viene distrutto neanche dalla potassa al 10 %. Orbene dalle ricerche del Valenti risulta che anche con gli acidi il reticolo cotiledonare di leguminose si comporta in modo da poterlo differenziare agevolmente da quello di frumento. In soluzioni infatti di acido solforico puro concentrato aggiunto di parti uguali d'acqua distillata, il reticolo delle leguminose si mette in evidenza e persiste a lungo, mentre quello di frumento si distrugge subito: perciò, trattando una mescolanza di farina di frumento e leguminose con l'acido solforico a parti uguali con acqua, si riescono mettere in evidenza i reticoli e ci si può fare un concetto del numero dei medesimi nelle farine; quindi se vi sia frode o no.

All'uopo si prendono 10 grammi di farina e s'impastano bene in un mortaio con 50 grammi d'acqua della soluzione nota.

Si versano in un bicchiere a calice e vi si aggiungono altri 50 grammi della soluzione agitando con una bacchetta di vetro.

In una farina contenente leguminose nella proporzione del 4 %, si ritrovano in ogni campo del microscopico da 4 a 5 reticoli cotiledonari. In proporzioni maggiori la quantità aumenta gradatamente.

Volendo poi distinguere le diverse specie di leguminose che sono state aggiunte, il solo mezzo microchimico non è sufficiente: se nelle prove preliminari la farina è di fagiolo o fava, ad esempio, con acido solforico ed acqua si ha un colorito, che, prima roseo, acquista presto un colore rosso-vinoso, mentre se c'è veccia va dal giallo-bruno a quello dell'infuso di caffè: però non si tratta di dati su cui seriamente fondarsi.

Si può anche ricorrere al procedimento sierodiagnostico. Il Bertarelli ha all'uopo preso in esame le farine di fagiolo, di pisello, di lenticchia, di fava e di veccia inoculando con gli estratti acquosi di questi semi i conigli per 6-7 settimane. Egli ha ottenuto sieri precipitanti specifici per l'infuso di pisello, fagiolo e di lenticchie nella concentrazione di 1 a 6000. Naturalmente però, questo genere di ricerche ha bisogno di ulteriori studi.

#### *Procedimenti per riconoscere la farina di segale aggiunta a quella di frumento.*

L'aggiunta di *farina di segala* è molto più difficile a stabilirsi. Si può anzitutto usare il metodo del Wittmart. A tal uopo si sospende 1 grammo della farina sospetta in 50 cc. di acqua, e si riscalda lentamente a 62° C, poi raffreddata la miscela, si esamina il deposito al microscopio. In genere si trovano, inalterati o poco alterati i granuli di amido di frumento, mentre quelli di segala sono rigonfiati e spaccati.

A questa prima prova di orientazione bisogna poi aggiungere quella del levigamento dell'amido e della misura dei diametri dei globuli più grandi: poichè, come è stato detto altrove, i grossi granuli della segala hanno dei diametri (intorno a 50  $\mu$ ) i quali non sono raggiunti da quelli più grandi del frumento. Nel contempo in questi granuli si nota con costanza l'ilo crociato o ad epsilon.

Finalmente si può prendere una certa quantità di farina setacciarla, raccogliere le masse che rimangono sul setaccio, trattarle con acido nitrico al 40 % e raccogliere il deposito in cui si trovano i reticoli. Questi reticoli si lavano sotto al campo microscopico e poi si trattano con potassa all'1,5 ‰. Si distruggono così i reticoli del frumento; quelli che persistono sono della segala, i quali hanno una forma quasi quadrangolare che in confronto a quella del reticolo del frumento, sino a un certo punto è abbastanza differenziabile.

Speciale importanza poi si attribuisce alla ricerca dei peli. Si prendono perciò 3 grammi di farina, si fanno bollire in 100 cme. circa di acqua e si raccoglie un po' della patina che rimane galleggiante e la si esamina al microscopio in una goccia di idrato di cloralio. Tenendo presenti i rapporti tra la grandezza del lume e lo spessore delle pareti, non è difficile poter trovare nei peli un buon dato differenziale.

Finalmente, si ricorre all'esame della crusca, di cui si debbono fare le sezioni come consiglia il Di-Vestea. In tal caso, oltre tenere presente lo speciale incurvamento delle cellule del mesocarpo (non dell'endocarpo come si ritiene generalmente) è bene come dice l'A. notare la notevole differenza che esiste nella grandezza complessiva delle stratificazioni, compresa quella delle cellule aleuroniche, (V. pag. 60) e se le laminette di crusca trascinino seco un cospicuo brandello di tessuto dell'albumo, ciò che succede frequentemente nella segala e nell'orzo ma non nel frumento.

*Procedimenti per riconoscere la farina di orzo aggiunta a quella di frumento.*

L'aggiunta di *farina di orzo* a quella di frumento, incontra ancora maggiori difficoltà ad essere diagnosticata.

Lo studio dei caratteri degli amidi anche dopo la prova del levigamento, se fa rinvenire granuli della forma globoso-lenticolare con tendenza alla forma di rene, o ad una forma non perfettamente ovoide o sferica, nonchè la presenza di granuli con ilo lineare si può sospettare la presenza dell'orzo. Al contrario dell'aggiunta di segala, quella di orzo non può seriamente essere avvalorata dall'aiuto della micrometria. Infatti per dirla col Di-Vestea se è chiaro che con l'aiuto della micrometria quando si trovano corpuscoli lenticolari che oltrepassano 41  $\mu$  di diametro, si afferma indubbiamente la presenza di segale, a rigor di termini non si può escludere la presenza del frumento e dell'orzo; come trovando corpuscoli che non oltrepassano i 41  $\mu$ , si esclude bensì la segala, affermando la presenza del frumento, ma non si può escludere l'orzo. Con l'aiuto della micrometria è quindi possibile una diagnosi completa e univoca solo in caso di farina di puro orzo. Fuori di questo caso è necessario

invocare altri criterii che (stando sempre nei limiti di una diagnosi microscopica) si trovano nei caratteri (molto vaghi) dei contorni e dell'ilo dei corpuscoli stessi, nella configurazione e grandezza dei peli e, meglio ancora, nella struttura degli elementi della crusca, la quale presenta il triplice strato di cellule aleuconiche che è assolutamente caratteristico.

In questi ultimi tempi è stato tentato il procedimento sierodiagnostico: si sono infatti ottenuti nei conigli inoculati coll'estratto della farina di orzo, con quello di segale e di frumento dei sierii che precipitano specificamente solo i relativi infusi di orzo, segale e frumento: però è ancora da vedere come si diporti il siero su dati infusi fatti con farina di orzo o segala o di ambedue mescolate a quella di frumento.

*Procedimenti per riconoscere le farine di dura, grano saraceno, avena, riso, aggiunte a quella di frumento.*

L'aggiunta di *dura, grano saraceno, avena, riso*, è assai meno frequente ed è assai più facile a diagnosticarsi. Giova anzitutto ricorrere al metodo Bartelaer, col quale si può o trovare o scartare la presenza di riso. Si prendono 20 grammi di farina e si pongono in acqua a 11-12° C per 1 ora. Indi si filtra e si aggiunge al filtrato altrettanta soluzione satura di acido picrico. Se non si ottiene alcun precipitato si tratta di sola farina di riso, se lo si ottiene si può trattare di tutte le altre farine poichè queste lo danno.

Per meglio avvalorare la diagnosi si può poi ricorrere alla prova del livigamento del Lecanu. Si prendono 15-20 grammi di farina si impastano con acqua e posti in una pezuola si spremono sotto uno stillicidio di acqua, raccogliendo l'acqua di lavaggio. Questa si agita bene e si versa in uno o più bicchieri a calice facendola però passare attraverso un setaccio di seta. Dopo 6-12 ore si osserva il deposito, in genere diviso in tre strati: in quello inferiore si trovano i grossi granuli del frumento, in quello superiore i piccoli, in quello di mezzo che è di un colorito giallo-sporco i medi. Se vi era stato aggiunto riso, i suoi granuli si trovano in questo strato e si riconoscono facendo preparati (cercando specialmente i granuli composti) dopo avere decantato l'acqua e insieme il primo strato, che si toglie facilmente perchè poco compatto. Bisogna però durante questa osservazione badare di non confondere il riso coi piccoli granuli del frumento che hanno dimensioni simili a quelli isolati del riso per quanto siano meno angolosi e uno almeno dei lati sia alquanto arrotondato.

Per differenziare poi, i granuli di riso da quelli dell'avena, del grano saraceno, della dura, si ricorre anzitutto, all'aiuto della micrometria la quale mette subito sulla buona strada. Giova però anche, servirsi nei casi dubbii di altri procedimenti.

Così, è utile ricercare i peli per i quali si può seguire lo stesso procedimento indicato per ricercare quelli di segala (V, pag. 79) che nel riso sono corti, tozzi, a base cuneata (fig. 42-b), mentre nell'avena sono lunghi, sottili (fig. 27-d); per il grano saraceno è utile ricorrere anche all'esame polariscopico, caso mai si avesse dubbio si trattasse di avena o di riso (si sa che il grano saraceno possiede granuli grandi 5-8  $\mu$ . attivi alla luce polarizzata) e



considerare bene la forma dei granuli composti, allargata, irregolare, mai nettamente ovoide come nel riso e nell'avena.

Per la dura, occorre tener presente la somiglianza dei granuli con quelli del mais, ma la mancanza assoluta di forme disposte a pavimento, il minor diametro dei più grossi granuli, e le diverse grandezze dei medesimi.

Secondo il Torelli inoltre la cavità centrale presenta una tale varietà di configurazione che molto facilmente riesce a costituire uno dei caratteri differenziali più salienti e adatti per distinguere l'amido della dura da quello del mais. Essa non è così uniforme e costante nella dura come nel mais; nelle forme estreme manca del tutto e i granuli presentano l'aspetto di cellule lisce ed appiattite, nelle mediane è visibile e frequentemente è costituito da una sottile ed elegante raggiatura la quale partendosi da una cavità centrale, raggiunge la periferia del granulo dividendola in molteplici regolarissimi segmenti. La varietà di queste forme di granuli non si riscontra nella farina di altri cereali, e costituirebbe un elemento diagnostico di molto valore. È utile anche ricercare i peli, che si presentano spesso con il lume diviso essendo anche pluricellulari (fig. 42-*a*) nonchè il reticolo cotiledonare lungo le cui pareti si trovano noduli piriformi rifrangenti e la crusca il cui mesocarpo differisce da quello di altri cereali.

Si potrebbe anche in casi assolutamente dubbi ricorrere al metodo sierodiagnostico servendosi del siero di conigli precipitante specificamente l'infuso di mais. È evidente che se questo siero non determina alcun precipitato nell'infuso di farina di frumento, in cui si è incerti se si trovi mescolata, non vi sarà dura o mais. Così usando un siero specifico per l'infuso di grano saraceno si potrà escludere od ammettere l'aggiunta di quest'ultimo alla farina ecc.

2. *Mescolanza con fecole.* — La fecola che più facilmente si trova mescolata è quella di patata. Essa, come del resto tutte le altre, è facilmente riconoscibile per i granuli di amido che non hanno nessuna somiglianza coi granuli dei cereali, delle graminacee e delle leguminose, granuli che facendo la prova del levigamento dell'amido si trovano subito al fondo del primo bicchiere. Ad ogni modo la diagnosi di mescolanza di amido di patata si può avvalorare ricercando i frammenti della buccia, che hanno l'aspetto di membra-



fig. 42.

nelle trasparenti, le quali sezionate mostransi costituite da vari filari di cellule tubulari a pareti sottili giallastre sovrapposte le une alle altre e man mano più basse procedendo dall'interno all'esterno (fig. 43).



fig. 43.

3. *Mescolanza con segatura di legno.* —

L'aggiunta fraudolenta di polvere di legno alle farine alimentari e al pane è stata accuratamente studiata dal Tavernari, il quale ritiene che il miglior mezzo di ricerca della stessa sia quello indicato dal Wiesner (metodo che consiste nel fare agire per breve tempo sulle sezioni o sui frammenti vegetali una soluzione alcoolica di floroglucina al 0.01 " e nel trattarli poi con acido cloridrico, con che si ha quasi istantaneamente in tutte le parti lignificate un color rosso traente al violetto) coadiuvato dall'esame microscopico dei frammenti di crusca. Il Ta-

vernari procede come segue:

Distesa la farina o il fiore in uno strato uniforme spesso di 2 mm. leggermente compresso, si lascia cadere una goccia di una soluzione alcoolica di floroglucina all'1 " e successivamente sulla traccia della prima una goccia di acido cloridrico, commerciale diluito, al  $\frac{1}{2}$ - $\frac{1}{4}$ ; se havvi della segatura di legno si paleserà quasi istantaneamente con un colore roseo, qua e là più accentuato, in punti tinti più intensamente in tono di fragola, mentre se si tratta di farina normale non solo la colorazione tarderà a comparire ma non assumerà mai un grado così forte, lasciandosi solo in parte colorare i frammenti di crusca: d'altro canto il numero dei punti rossi sarà, di fronte alla farina con segatura, molto minore.

Invece della floroglucina, si possono anche adoperare altri reagenti più sensibili. Così il Piutti adopera l'ortobromofenetidina che colora in giallo solo le parti lignificate, mentre quelle cellulosiche rimangono scolorate.

Si può del resto anche, senza ricorrere all'ortobromofenetidina, rendere il procedimento più sensibile col cercare di riunire i frustoli di legno che si trovano in una determinata quantità di farina distruggendo in essa i corpuscoli di amido. Io mi servo del seguente procedimento.

Prendo 10-15 grammi di farina, li tratto con 500 emc. di una soluzione di acido cloridrico al 25-30 " a caldo, avendo cura di rimescolare il materiale in una capsula man mano che si scalda. Poi ancora calda, verso tutta la miscela in un filtro piano di porcellana bucherellata coperto di due, tre fogli di carta bibula e applico l'imbutto sopra una bottiglia tubulare per filtrare coll'aiuto dell'aspirazione. Allorchè tutto il liquido è filtrato, verso sulla carta bibula una soluzione alcoolica all'1 " di floroglucina; poi, passata questa, dell'acido cloridrico commerciale. Dopo poco tempo se evvi segatura di legno si

troveranno una serie di frustoli colorati in rosso fragola. I frustoli di crusca non assumono mai una colorazione con un tono così netto: la maggior parte delle volte anzi non si colorano affatto. In ogni caso la diagnosi si può avvalorare prendendo qualche pezzetto e sottoponendolo all'esame microscopico.

Qualora poi non si possenga il microscopio, si può, dopo filtrato tutto il liquido, lavare bene ciò che rimane sul filtro con acqua distillata, facendone passare attraverso il filtro circa 500 cmc., poi si toglie la carta bibula, si pone sopra un piatto di porcellana e si secca a dolce calore. Quando la carta è secca, si inumidisce con una soluzione alcoolica di floroglucina all'1 % acidificata con acido fosforico. Se vi è segatura si ottiene una colorazione rosso-fragola, scaldando ancora il piatto. La crusca non assume mai questa colorazione.

4. *Mescolanza con polveri minerali.* — Le sostanze minerali che si sogliono unire alle farine a scopo di frode sono:

α) la creta; β) le terre magnesiache; γ) il gesso; δ) lo spato pesante (solfato di Ba); ε) il caolino; λ) la farina fossile (latte di luna); μ) le ceneri di ossa.

Per rintracciare queste sostanze bisogna ricorrere anzitutto al metodo di Calletet consistente nel porre 4 o 5 gr di farina in un vaso cilindrico contenente 30 cmc. di cloroformio, agitare e lasciare a sè per qualche ora; dopo questo trattamento le sostanze minerali vanno al fondo del recipiente, mentre l'amido rimane a galla. Occorre però, perchè quest'ultimo fatto si verifichi, che l'amido non sia anidro; ossia che non abbia una densità minore del cloroformio; all'uopo consiglio di porlo precedentemente disteso in apposito piattello entro una camera umida di Tyndall, nella quale si sia versata una piccola quantità d'acqua. Ottenuto il deposito ricercato (che in piccolissima quantità può trovarsi anche normalmente) va esaminato al microscopio.

Se trattasi di polvere di marmo si osserveranno subito cristalli romboedrici di carbonato di calcio, i quali trattati con  $H^2SO^4$  si trasformeranno in cristalli aghiformi di solfato di calcio. Se si tratta di ossa calcinate si osserveranno degli ammassi di sostanza finemente granulosa giallo-sporea, marrone o nera, i quali trattati con  $H^2SO^4$  diventano il centro della formazione di cristalli aghiformi del pari di solfato di calcio. Se si tratta di altri materiali, questi trattati con acido solforico o con altri acidi rimangono insolubili e sono diagnosticabili coll'esame microscopico soltanto, quando si tratti di farina fossile, essendo questa formata di scheletri di diatomee.

4. RICONOSCERE SE LA FARINA SIA INQUINATA DA PARASITI. — Quando le farine provengono da grani avariati oppure allorchè non sono state bene conservate possono presentarsi inquinate da parassiti.

Riguardo ai *Grani avariati* si riconoscono abbastanza facilmente.

« I chicchi di grano attaccati dalla volpe o dalla ruggine o dai parassiti animali perdono del loro peso, e quindi immergendo una certa quantità di grano nell'acqua, i chicchi ammalati vengono a galla: così possiamo giudicare sino a un certo punto delle qualità del grano e del suo valore alimentare. Ma i semi, conservati in locali umidi e male aerati o in grandi ammassi, subiscono facilmente un processo di fermentazione con lo sviluppo di batteri e di muffe che li rendono impropri al consumo. In questo caso la forma e il peso del chicco non vengono punto cambiati, nè sempre si ha lo sviluppo di odore speciale, che può avvertire della cattiva conservazione del seme. Bisogna allora ricercare se il seme ha conservato la proprietà di germinare, che immediatamente viene distrutta dalla presenza di microfiti, i quali invadono prima il tessuto protoplasmatico dell'embrione. La prova si fa con un apparecchio detto appunto *germinatore* (fig. 44) co-

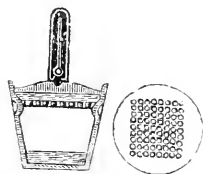


fig. 44.

stituito da un recipiente di vetro, da un disco di porcellana con cento forellini scavati ad imbuto il cui foro più piccolo ha un diametro inferiore a quello trasversale della cariosside dei cereali. Un altro disco di feltro portante nel centro un termometro serve da coperechio all'apparecchio. A cinque centimetri circa dal bordo libero del vaso nella parte interna, si nota una sporgenza circolare che serve a sostenere il disco di porcellana, il quale va esattamente a combinare con la parete del vaso.

Si prendono 100 chicchi di grano da esaminare e si dispongono coll'embrione rivolto in basso nei forellini ad imbuto del disco di porcellana; si rimette il disco a posto, versando un po' d'acqua sul fondo del recipiente. Si ricoprono i chicchi con un leggero strato di terra di giardino umida, e si sovrappone il disco di feltro, abbandonando l'apparecchio in luogo a temperatura conveniente per la germinazione (20°-25°). In questo modo in opportune condizioni di calore ed umidità, i chicchi sani germignano, e dal conteggio, dopo alcuni giorni, potremo desumere la percentuale dei grani avariati, che anche nelle migliori partite di semi, raggiunge sempre il 3-4 % » (Terni).

Riguardo ai *parassiti delle farine* generalmente si distinguono in *preesistenti* quando si trovavano già nel seme e in *sopraggiunti* quando si sono sviluppati propriamente nella farina stessa. Gli uni e gli altri poi possono essere animali e vegetali.

a) *Parasiti animali*. — Si possono gettare degli spizzichi di farina in un bicchiere a calice contenente acqua distillata e raccogliere le mondiglie rimaste alla superficie osservando in una goccia di potassa al 5-10 % per sciogliere l'amido: però in alcuni casi, quando per es. si sospetti la presenza di *acari* è meglio distendere la farina in sottile strato sopra un piatto verniciato bianco, facendole acquistare una superficie uniforme e attendere alquanto. Si vedrà allora che sulla superficie della farina si formano tante piccole protuberanze crateriformi che sono il punto di partenza di solchi che si vanno formando, nei quali con una lente si vedrà qualche cosa muoversi. Si possono allora toccare questi punti con un ago bagnato e osservarli al microscopio. Qualora poi non si voglia attendere, basta spruzzare la farina col reattivo di Vogl e porre al microscopio i puntini neri che appaiono.

I parassiti animali che si possono trovare nelle farine più comunemente sono il *tyroglyphus farinae* che è il comune *acaro* della farina; il *tenebrio molitor* allo stadio larvale; un coleottero nerastro fornito di una lunga proboscide detto *sitophilus granarius* o *punteruolo* che si può trovare nelle farine sia allo stato adulto che allo stato larvale; l'*anguillula tritici* che nel grano dà luogo alla così detta *gotta del grano* caratterizzata da sporgenze sulla superficie del chicco dentro le quali si trova un residuo polveroso, formato da gomitolini di anguille; la *tignuola* o *alucite* (*accophora cereatella*) lepidottero fornito di due grandi ali inclinate a forma di tetto; ed altri parassiti meno frequenti dei suddetti.

b) *Parasiti vegetali*. — I parassiti vegetali che si possono trovare nelle farine provenienti dal seme sono almeno tra i più comuni la *segala cornuta*, le spore di *puccinia*, di *tilletiae*, di *ustilago*. Quelli che si sviluppano dopo, sono generalmente batterii, blastomiceti, ifomiceti.

La *segala cornuta* rappresentante lo sclerozio del fungo detto *claviceps purpurea* si forma non solo nella segala, ma anche nel frumento ed è molto importante ricrearlo (benchè sia noto che da noi l'ergotismo non si verifica mai o quasi mai e che i nostri grani non sono quasi mai avariati dalla segala) perchè bisogna pensare che molto ne viene importato dal di fuori.

Del resto come fa osservare lo Stagnitta-Balistreri « se la quantità di segala cornuta che si osserva nelle farine di prima qualità, anche provenienti da grani molto avariati, generalmente non è tale da recare apprensioni dal punto di vista sanitario e nemmeno si può affermare che ne vengano modificate le qualità fisiologiche normali richieste per questo tipo di alimento: non si può dire altrettanto dei residui della burattazione di queste farine, perchè essi contengono la massima parte del cornetto sclerotinico, sicchè quando vengono utilizzati per la confezione

delle farine di seconda e terza qualità, queste contengono quasi sempre una quantità di segala cornuta assai rilevante. Di più il 95 per cento circa delle farine di qualità inferiore, confezionate coi prodotti di macinazione dei grani esteri, contengono la segala cornuta in quantità raramente inferiore all'1-2 per cento ».

I metodi per la ricerca della segala nelle farine, ossia dello sclerozio del fungo, sono molteplici; chimici, spettroscopici, microscopici. Questi ultimi sono i più sensibili.

A tal uopo, seguendo il metodo Stagnitta, si distende un po' di farina da esaminare in un sottile strato uniforme con superficie liscia, sopra un piatto o una lastra di vetro. Si spruzza la farina fino ad impregnamento col liquido di Vogl badando che le goccioline di liquido che cadono sulla farina, siano finissime per non alterare la superficie uniforme dello strato. Si riscalda quindi il piatto o la lastra, passandoli sulla fiamma fino a 30°-40° e poi si cercano quei punti che hanno un colorito bruno o rosso vinoso. Con un ago si prendono e si trasportano sopra il vetrino porta-oggetti, in una goccia d'acqua distillata e quindi si sovrappone il vetrino copri-oggetti, comprimendo leggermente ed asciugando ai margini l'eccesso di liquido. La osservazione si eseguisce prima a piccolo ingrandimento (ocul. 3, obj. 2 Koritska) cercando nel campo microscopico i frustoli di color rosso vinoso o bruni, e fissandoli nel mezzo del campo. Indi si pone da un lato al margine del vetrino copri-oggetti un pezzetto di carta bibula in modo da stabilire una corrente sotto il campo del microscopio e dal margine opposto si fa penetrare a gocce la potassa al 20-30 %/o. Dal frustolo della segala si viene a estrarre la sostanza colorante che ha una tinta violacea smagliante.

Si può ancora viepiù avvalorare la diagnosi osservando la struttura del frustolo. All' uopo si lascia agire la potassa per qualche minuto nello stesso preparato, quindi si comprime il vetrino copri-oggetti in modo da schiacciare e distendere il frustolo in esame, e si osserva a più forte ingrandimento. Si notano (fig. 45-*a*) allora cellule poligonali e ovoidi a doppio con-

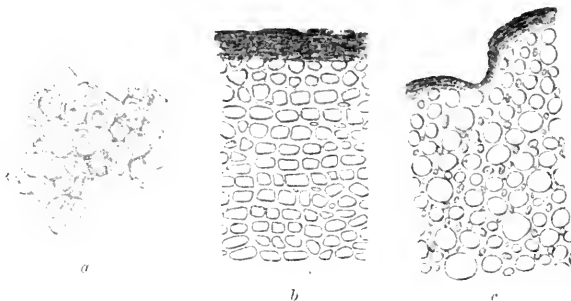


fig. 45.

torno con contenuto brillante nei punti in cui gli oli estrattivi non sono stati ancora saponificati dalla potassa, e ciò quando il frustolo appartiene alla

periferia del cornetto e quando cade nella osservazione di piatto; se invece aderisce al frustolo anche la parte midollare del cornetto e la osservazione cade nel senso longitudinale, appaiono le cellule allungate e gli ifi dicotomi del micelio, pure con contenuto splendente.

Si può anche raccogliere qualche frustolo e sezionarlo. In tal caso si troverà: « nei tagli trasversali (fig. 45-c) presenza di numerose cellule rotonde o poliedriche a pareti spesse, incolori nella parte centrale, colorate in viola verso la periferia e nei tagli longitudinali (fig. 45-b), presenza di cellule allungate nel senso dell'asse maggiore dello sclerozoido ed irregolarmente sinuose, contenenti goccioline di olio rifrangenti di diversa grandezza le quali spesso mascherano il tessuto cellulare, per cui è consigliabile trattare prima con etere che le discioglie e permette di veder bene quest'ultimo ».

Bisogna però ricordare che la reazione con la potassa, specie nelle farine setacciate con buratti finissimi, nelle quali la parte periferica del cornetto difetta, non si verifica che in qualche frustolo. In questi casi bisogna ricercare quei frustoli che posseggono la parte periferica dello sclerozoido, sul quale si potrà far agire la potassa caustica. Soltanto nei casi in cui la segala e la farina siano state molto male conservate, la reazione potrà mancare; ma allora basterà l'esame microscopico del frustolo a togliere ogni dubbio.

Si può anche facilitare la ricerca della segala con una prima reazione macroscopica e cercare di eliminare l'amido sino dal principio della operazione.

A tal uopo al metodo Pratesi Di Vestea per il distendimento della farina in sottile strato sopra un piatto di porcellana, seguito dallo spruzzamento del materiale col reattivo del Vogl, sostituisco il setacciamento della farina attraverso un setaccio a larghe maglie, sopra un piatto coperto di carta bibula a vari strati e bagnata abbondantemente di una soluzione di acido nitrico al 20 %. L'acido nitrico se puro e concentrato in questa proporzione distrugge gli amidi dei cereali, lasciando intatti i frustoli di segala che assumono un colorito rosso fragola dopo un certo tempo e spiccano sul fondo leggermente giallo della carta bibula. Ottenuta questa reazione si può prenderne qualcuno con un ago e osservarlo sotto al campo microscopico (ocul. 3, obj. 2 Koritska) tra un portoggetti e un coproggetti. In tal caso, se esso apparterrà alla parte periferica dello sclerozoido, sarà colorato in un bel tono rosso-fragola. Si può anche precedentemente versare la potassa sui punti rossastri che si trovano sulla carta bibula, e allora si otterrà che essi diverranno scuri e circondati, i più grossi specialmente, di un alone sfumato violaceo, sebbene non con molta costanza.

Ad avvalorare la diagnosi si possono anche fare altre due osservazioni consistenti nel setacciare sopra un piatto bagnato con potassa al 20 % la farina sospetta e ripetere la stessa operazione sopra un piatto contenente acido nitrico puro. Nel piatto contenente la potassa si noteranno, dopo un po' di tempo, scaldando il piatto, dei punti violetti circondati da un alone sfumato dello stesso colore, e nel piatto contenente acido nitrico, gli stessi punti ma rossastri con alone sfumato dello stesso colore.

Quando poi la farina sia stata mal conservata e i frustoli di segala non assumano la colorazione rosso fragola, dopo il trattamento con l'acido nitrico

al 20 per cento, non rimane che prendere tutti i frustoli giallo-bruni o scuri e osservarli al microscopio per vedere se hanno il tipico aspetto dei frustoli di segala.

Per stabilire poi la quantità di segala, può servire lo stesso metodo indicato dal Di Vesteia per l'agrostemma: mescolando l'1  $\frac{1}{100}$  di segala alla farina, io ho trovato in media, nel campo di 16 cm<sup>2</sup>, 62 frustoli. Lo Stagnitta avendone trovati 5 quando la segala vi era mescolata nelle proporzioni del 0,1  $\frac{1}{1000}$ , ossia 50 nelle proporzioni dell'1  $\frac{1}{100}$ , vi sarebbe una differenza di 12 frustoli in più. Si comprende del resto come questi dati siano passibili di qualche differenza, a seconda della mescolanza più o meno ben fatta della farina e della segala.

Le *pucciniae*, le *tilletiae*, le *ustilago* sono spore di diversi funghi i quali costituiscono rispettivamente la *ruggine*, la *carie*, il *carbone del grano*. Esse si rinvencono abbastanza facilmente nelle

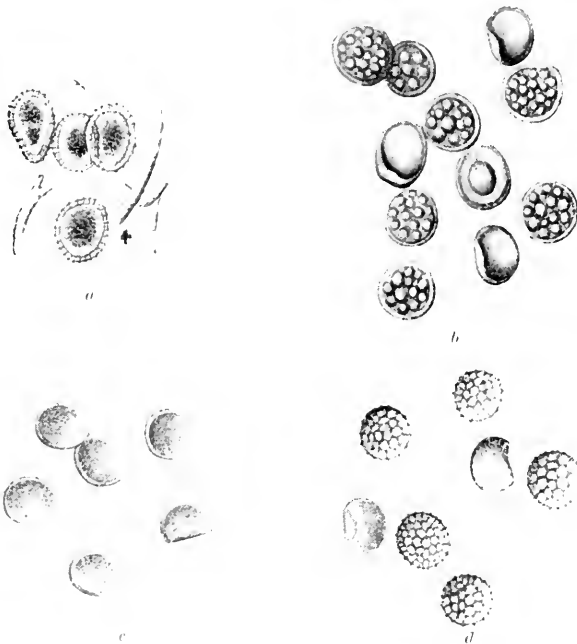


fig. 46.

farine, specialmente se si ha cura di stenderle in sottile strato sopra un piatto bianco verniciato e spruzzarle con acqua: si troveranno allora qua e là puntini nerastri, che, ove siano in piccolis-



sime quantità, non debbano essere considerate dannose specie le Puccinie e le Tillezie. Le Ustilago solo potrebbero esserlo perchè si sa che tali spore contengono una sostanza solubile in acqua, tossica e ad azione paralizzante (De Marchis). Esaminati al microscopio si presenteranno:

se di *puccinia*, (fig. 46-a), come corpi ovoidali, con o senza picciuolo, a parete liscia od un poco rugosa, a contenuto granuloso, color ruggine;

se di *tilletiae* (fig. 46-b), come corpi sferici con leggera ondulazione periferica e con contenuto reticolato dentro le cui maglie si trova una sostanza protoplasmatica bruna, grandi  $\mu$  15-18, quindi assai più di quelle di *ustilago carbo* con le quali molti trattatisti non tenendo conto delle dimensioni costantemente le confondono;

se di *ustilago*, come corpi generalmente un po' ovoidali, piccoli, di colorito nero ebano, a pareti lisce ed a contenuto che può essere rappresentato da corpicciuoli sferici risplendenti, (fig. 46-c) e ciò nel caso si tratti dell'*ustilago carbo*, grandi  $\mu$  5-8; ovvero corpi sferici, con membrana presentante all'esterno sporgenze a guisa di aculei ed a contenuto di colore marrone oscuro, grandi  $\mu$  9-13, nel caso si tratti di *ustilago maidis* (fig. 46-d).

I batteri che si possono trovare nelle farine, sono stati studiati solo nella farina del mais in rapporto all'etiologia della pellagra: non sembra però sinora si siano trovati altro che dei microrganismi comunissimi e specialmente il *b. mesentericus vulgatus* e il *pr. vulgare*.

Nel mais guasto, si è parlato di uno speciale bacillo, il *b. maidis*, ma esso non è che uno dei mesenterici (il *fuscus* forse) e non ha importanza alcuna, checchè sia stato scritto in proposito.

La ricerca di questi germi oramai non si fa che per vedere se la farina sia in via di putrefazione o no.

I *blastomiceti* che si possono trovare nelle farine furono del pari poco studiati. Il Peters ne trovò nelle farine in fermentazione quattro: certo si è che forme blastomicetiche vi si possono trovare e per quanto a me costa non è difficile rinvenire abbastanza frequentemente il *rosa-hefe* che è tanto comune nell'aria.

Gli *ifomiceti* che si possono trovare nelle farine sono rappresentati pure dalle commi specie di *penicillium glaucum*, *mucor racemosus*, *mucor mucedo*, *aspergillus glaucus* e *niger*, *rhizopus nigricans*, ecc. la presenza dei quali, in primo tempo è rivelata da miceli (e bastano questi da soli per ritenere la farina avariata) e quando la farina è vecchia solo da spore, ossia da corpicciuoli rotondi rifrangenti che molto facilmente si confondono con goc-

cioline di grasso se non si fa attenzione alla loro membrana bene distinta.

La ricerca degli ifomiceti nelle farine ha in questi ultimi tempi assunto grande importanza specie dopo gli studi fatti sulla tossicità delle spore di una varietà di un penicillo glauco, il quale parrebbe avere relazioni con la pellagra (Di Pietro).

Diventa quindi importante saper dire se in una farina si trovino delle muffe e se tra queste muffe vi siano più o meno abbondanti le spore di questa varietà di penicillo.

Per ricercare le muffe nelle farine, si può seguire il seguente procedimento:

Si piglia un po' della farina sospetta, si essicca a 35°-40°, si disgrega in un modo qualunque, magari pestandolo in un mortaio, e poi si getta a pizzichi in un bicchiere a calice, della capacità di mezzo litro, contenente acido nitrico al 50 %, agitando con bacchetta di vetro, perchè non si formino dei grumi. Si lascia stare in riposo per un'ora dopo di che si osserva il deposito al microscopio (Pastore).

Se la farina è ammuffita, si noteranno le spore delle muffe e in condizioni favorevoli può capitare di vedere dei miceli o dei frammenti di essi. Talvolta se questi vi sono, può nascere un po' di confusione tra i reticoli amiliferi che rimangono intatti ed ammassati e gl'ifi: però ove si tengano presenti alcune particolarità, quali la grossezza maggiore dei miceli, le forme clavate, i setti, sarà facile evitare gli errori.

Va anche notato che quando si ha una farina normale, di frumento ad esempio, dopo il trattamento con l'acido nitrico, al microscopio, oltre ai detriti e al reticolo amilifero, osservansi dei corpuscoli rotondi, piccolissimi, rifrangenti che potrebbero a prima giunta trarre in inganno. Ma nella massima parte dei casi questi corpicciattoli sono sempre più piccoli delle spore degli ordinari penicilli, aspergilli e delle mucorinee: hanno un contorno non perfettamente rotondo e sono di grandezza varia. Le spore invece sono perfettamente rotonde, spesso unite a due, a tre, a catena o ad ammassi, identiche nelle loro dimensioni, aggruppate talvolta attorno ad un micelio. Del resto ove poi nascessero dei dubbj, si possono prendere 10-15 grammi di farina, trattarla con l'acido, lavarla con alcool od etere, poi osservare il deposito al microscopio. Se vi sono spore si troveranno e non potranno confondersi con tali elementi, poichè questi scompaiono.

Si può anche colorare il materiale, per esempio con la crisoidina, la quale in soluzione idroalcolica, tinge splendidamente in giallo le spore e i reticoli amiliferi.

Quanto alla ricerca della speciale varietà fossica di penicillo basta prendere (Di Pietro) un po' di farina, sbatterla in acqua distillata sterilizzata e con una pipetta del pari sterilizzata, versarne qualche decimo di cmc. in piastre di Petri già contenente raffreddato uno strato di agar-agar comme aggiunto di acido tartarico e glucosio (v. Batteriologia). Dopo 24 ore a temp. ord. (25°) si sviluppano colonie ramosse bianche nella superficie superiore, gialliccie nell'inferiore che sporificano rapidamente, le quali trasportate in gelatina ordinaria o acida, non fondono.

Con le spore del penicillo si seminano poi diversi tubi di agar solidificato a becco di flauto e quando sono sporificati, si estrae la patina e si dà a mangiare a una piccola cavia. Dopo 1-2 ore cominciano negli animali delle scosse e dei tremori e un barcollamento caratteristico. Se la dose è forte l'animale muore in collasso dopo 8-10 ore: se è debole si salva. In ogni modo la diagnosi è fatta.

### Pane e Paste.

Nell'esame microscopico del pane e delle paste vanno tenuti presenti tutti i quesiti che debbono risolversi quando si procede all'esame di una farina.

Generalmente l'esame si pratica per ricercare:

- 1° quale sia la farina di cui sono composti;
- 2° se alla farina usata siano mescolati elementi di semi eterogenei;
- 3° se alla farina usata sia stata aggiunta farina di altra specie;
- 4° se siano alterati da parassiti.

Rignardo alla tecnica da seguirsi:

1° quando si voglia sapere la specie o le specie di amido di cui è fatto il *pane* o se vi si trovino elementi di semi eterogenei, non esaminare gli strati superficiali che sono stati più sottoposti all'azione del calore, ma la mollica e possibilmente quei *punti* che sono rimasti non cotti e che vi si trovano sempre, spappolarli in acqua e osservarli: quando si tratta di *pasta* pestarne alcuni pezzi in un mortaio riducendoli in polvere finissima e poi fare preparati inclusi in acqua glicerinata;

2° quando si voglia sapere se il *pane* sia alterato da parassiti, esaminare preferibilmente gli strati superficiali ove generalmente si noteranno delle macchie di vario colore che potranno mettere sulla strada, ammenochè non si tratti di parassiti già

preesistenti nelle farine perchè allora è più conveniente esaminarne gli strati interni ossia la mollica.

Però, esaminando direttamente la mollica al microscopio, non sempre si riescono a stabilire delle diagnosi sicure, specie quando si vuol vedere se alla farina siano commiste sostanze estranee come polveri minerali, parassiti, ecc.

Io ho trovato utile tagliuzzare la mollica, se il pane è fresco, frammentarla se è secco, e poi essiccarla a modico calore per es. a 37°-40° o meglio ancora in un essiccatore ad acido solforico, magari se possibile facendovi il vuoto. Poi trituro la mollica essiccata, in un mortaio, la passo a un fino setaccio metallico e la polvere ottenuta considero poi come se fosse farina, sottomettendola cioè a tutti quei procedimenti che servono a scoprire le adulterazioni e le sofisticazioni delle farine, nonchè le sue alterazioni.

Lo stesso trattamento faccio subire alla pasta: soltanto in alcuni casi in cui è difficile renderla così secca da ridurla triturbabile, mi servo della raschiatura che ottengo con un bisturi, raschiatura che a sua volta essico e trituro in un mortaio.

Va da sè poi che prima di tutti questi trattamenti sia il pane che la pasta debbono essere osservati, magari con l'aiuto di una lente per vedere se vi siano alterazioni macroscopiche date da parassiti animali, come il punteruolo per es. o da altre cause.

Nel praticare l'esame microscopico tanto del pane quanto della pasta, bisogna ricordare costantemente che molti granuli appaiono rigonfiati, deformati, con spaccature per effetto delle manipolazioni cui è stata soggetta la farina. Così pure, i grandi granuli del frumento, si rigonfiano, presentano una striatura più o meno visibile, e ai principianti ricordano i granuli di fecola di patata, oppure si fessurano, a croce o ad *ipsilon* ricordando i granuli di segala. Visti poi di lato i granuli di frumento possono presentare una lunga fessura che ricorda l'ilo dei granuli di orzo, ecc.

Tenendo presenti le dimensioni dei granuli si può però facilmente escludere che i granuli appartengono alla segala e all'orzo, come tenendo presenti i caratteri dell'amido di patata, e il modo di diportarsi verso la luce polarizzata, si può escludere che si tratti di granuli di questa fecola.

Inoltre è opportuno, avere cura speciale di ricercare specie, se si tratta di pane, se si trovi commisto del taleo la così detta *polvere da pane*. Secondo l'Antosso, l'esame microscopico giova moltissimo a scoprirla, specialmente se, come io consiglio, si dissecca prima il pane, si tritura e si tratta, come se fosse farina, col metodo di Calletet. La presenza del taleo è rivelata da aghi o prismi (spicole) grandi mm. 0,03 — 0,07  $\times$  0,001 oltre ad altri elementi lamellari e a corpuscoli di forma quadrilatera.

## ESAME MICROSCOPICO DEL CAFFÈ, DEL THÈ, DEL CACAO, DEL CIOCCOLATTO, DELLO ZUCCHERO, DEL MIELE.

### Caffè.

I frutti del caffè sprovvisti del loro pericarpo sono rappresentati dai così detti chicchi del caffè, ossia da grani verdastri generalmente più lunghi che larghi, convessi da un lato, piani e solcati longitudinalmente dall'altro.

Istologicamente parlando sono costituiti dall'albume del seme, generalmente ancora rivestito dello spermoderma, ossia:

1° Da un tessuto di cellule poliedriche l'una disposta accanto all'altra, a pareti spesse circa  $6 \mu$ , colorate leggermente in verde giallastro contenenti goccioline oleose e granulazioni di varia natura (amidacee ecc.):

2° Da un tessuto costituito da uno strato di cellule appiattite, allungate, a pareti non bene distinguibili, formanti nel loro insieme una membranella trasparente adesa all'albume e di uno strato di elementi allungati (fino a  $500 \mu$ ) e molto stretti ( $30-40 \mu$ ) fusiformi a parete spesso finestrata trasversalmente, formanti nel loro insieme una membrana che rappresenta lo strato più esterno dello spermoderma.

Questi chicchi adoperansi o triturati torrefatti, allo scopo di fare il noto infuso di caffè ed all'esame microscopico oltre ad una serie di corpi amorfi, e di goccioline oleose, non dovrebbero mostrarsi costituiti che dal reticolo dell'albume (fig. 47-*a*) e dalle cellule fusiformi dello spermoderma (fig. 47-*b*), (raramente si vede lo strato interno di quest'ultimo) che si possono met-

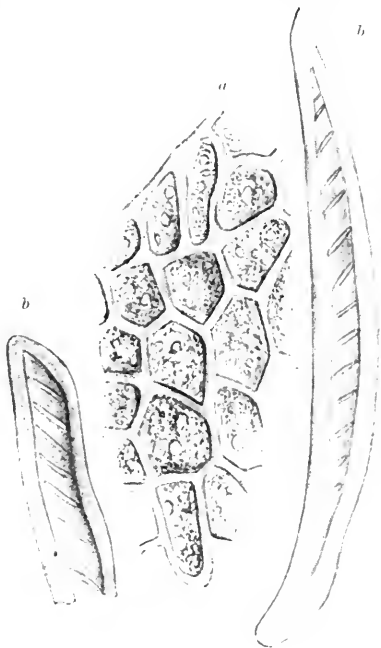


fig. 47.

tere bene in evidenza trattando il materiale triturato, con alcool o etere o potassa (1 di materiale su 4 di solvente). Ciò si fa agitando

il miscuglio per breve tempo in una provetta, indi si lascia depositare, si decanta il liquido, si sostituisce acqua e si sottopone all'esame microscopico.

L'esame microscopico dovrebbe poter servire a riconoscere di quale specie di caffè si tratti: ma, in realtà esso non serve che a mettere in evidenza sia le adulterazioni che si fanno del caffè in chicchi, sia quelle che si fanno del caffè torrefatto e macinato.

1. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE LA QUALITÀ DEL CAFFÈ. — Di questo studio si è recentemente occupato il Tusini il quale ha praticato sezioni dei grani di caffè verdi, dopo averli fatti bollire in potassa al 10 % per  $\frac{1}{2}$  ora. Queste sezioni esaminate al microscopio dopo passaggio in alcool e xilolo ed incluse in balsamo del Canada mostrano ben misurabili le cellule dell'alburno e dello spermoderma.

L'A. avrebbe trovate le seguenti dimensioni medie:

TABELLA 3.

Qualità del Caffè	Grandezza in $\mu$ delle cellule		
	del reticolo alla periferia	in prossimità dell'ilo	dello spermoderma
Abissino . . . . .	62 $\times$ 45	52 $\times$ 39	275 $\times$ 32
S. Domingo . . . . .	60 $\times$ 40	56 $\times$ 44	300 $\times$ 33
Portorico . . . . .	60 $\times$ 35	63 $\times$ 35	267 $\times$ 29
Moka . . . . .	59 $\times$ 41	56 $\times$ 43	255 $\times$ 32
Santos . . . . .	57 $\times$ 45	61 $\times$ 43	355 $\times$ 32
Venezuela . . . . .	50 $\times$ 42	44 $\times$ 34	320 $\times$ 30

Queste dimensioni si mantengono secondo l'A. su per giù abbastanza costanti finchè si tratta di chicchi di caffè verdi: però a voler giudicare a quale qualità appartenga un caffè torrefatto, non ci si può riferire che alle dimensioni delle cellule dello spermoderma, le quali sarebbero in media le seguenti:

Nel caffè abissino	$\mu$	. . .	196 $\times$ 30
» Moka	»	. . .	165 $\times$ 29
» S. Domingo	»	. . .	184 $\times$ 30
» Portorico	»	. . .	222 $\times$ 27
» Santos	»	. . .	212 $\times$ 30
» Venezuela	»	. . .	238 $\times$ 30

2. ESAME PER RICONOSCERE LE ADULTERAZIONI DEL CAFFÈ.  
 — *Adulterazioni del caffè in chicchi.* — Consistono nel mescolare, più raramente nel sostituire completamente i chicchi di vero caffè torrefatto con grani che hanno pressochè forma simile, fabbricati con varie materie (pasta di farine diverse e per lo più di cereali, di argille, ecc.). Questa falsificazione si riconosce già molte volte dal colorito e dalla forma ed in ogni caso perchè per lo più i chicchi falsificati gettati in un bicchiere di acqua vanno al fondo e sono anche facilmente sgretolati e polverizzabili al contrario di quello del vero caffè, salvo il caso non si tratti di caffè già bollito e rimesso in commercio.

Quando poi questi dati non fossero sufficienti, basta ricorrere allo esame microscopico della polvere che si ottiene dalla loro pestatura, nella quale non si devono trovare che gli elementi caratteristici del caffè.

*Adulterazioni del caffè polverato.* — Esse consistono generalmente nel mescolare alla polvere di caffè i così detti succedanei del caffè, cioè le radici di cicoria, i fichi, le ghiande dolei torrefatte, le farine, le fecole, la segatura di legno, i semi di arachide, i nocciuoli di olivo, i semi del corugo e del sorgo, le rape e le carote essiccate, delle polveri minerali, delle polveri di mattone, e perfino quella di sughero.

Qualora si sospetti la presenza di elementi estranei nel caffè, si può cominciare col versarne una certa quantità in un bicchiere a calice contenente una certa quantità d'acqua, osservando poi se il materiale stesso va al fondo e l'acqua si tinge; nel caso che questo succeda si può ritenere che il caffè sia stato falsificato (ammenchè non si tratti di fondo di caffè essiccato e rimesso in commercio), dachè il vero caffè galleggia e non si tingono che dopo qualche tempo, leggermente in giallognolo gli strati superficiali del liquido.

Per fare poi le diagnosi del materiale col quale è stata adulterata la polvere di caffè, occorre conoscere quali sono gli elementi caratteristici delle varie sostanze che si usano a scopo di frode.

Gli elementi caratteristici delle *radici della cicoria torrefatta* sono rappresentati da frammenti di elementi cilindrici con striatura trasversale (fig. 48), rappresentanti pezzi del tessuto della radice. Possono anche trovarsi, ma molto difficilmente, delle cellule parenchimatose poliedriche a pareti sottilissime, frammenti di vasi laticiferi, ecc.

Gli elementi caratteristici dei *fichi torrefatti* sono rappresentati da cellule grandi irregolari, poliedriche con molti vasi lattiferi grandi, a contenuto granuloso, anastomizzanti fra di loro (fig. 49-*a*), oltre ad altri elementi di secondaria importanza (fibre

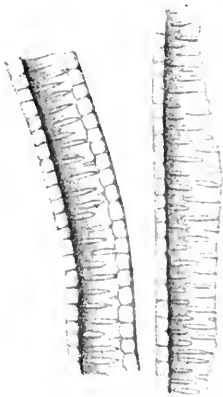


fig. 48.

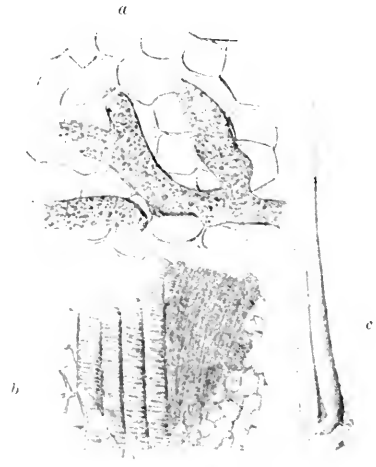


fig. 49.

vascolari (fig. 49-*b*), elementi cellulari poliedrici, spesso con cristalli di ossalato di calcio, peli (fig. 49-*c*) ecc).

Gli elementi caratteristici delle *ghiande dolci torrefatte* sono rappresentati da grandi cellule poliedriche racchiudenti granuli di amido (fig. 50) irregolarmente ovalari, a ilo puntiforme od a fessura

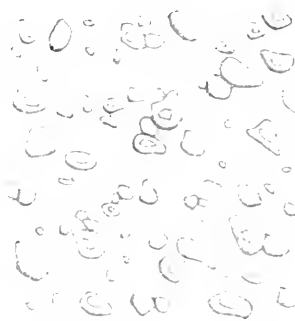


fig. 50.

centrale ed a stratificazione concentrica qualche volta evidentissima, oltrechè di elementi di secondaria importanza, fasci vascolari, ecc.



Gli elementi caratteristici delle *carote torrefatte* si riconoscono per la presenza di un tessuto parenchimatoso con cellule a maglie ovalari e pareti sottili, contenenti degli aghi giallastri e per la presenza di elementi tracheali irregolari con fessure lineari visibilissime.

Gli elementi caratteristici dei *noccioli di ulivo torrefatti* (fig. 51) si riconoscono specialmente per la presenza di lunghe fibre fusiformi, incolori, non fenestrate, che si trovano insieme a molte cellule sclerosate a pareti spesse, con fessure nella parete interna.

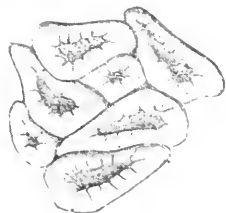


fig. 51.

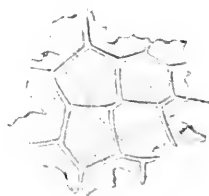


fig. 52.

La *segatura di legno* si rivela per le molteplicità delle fibre legnose che si trovano nelle preparazioni.

La *polvere di sughero* (fig. 52) (scoperta dal Bajardi nel caffè torrefatto macinato) è più difficile ad essere diagnosticata tanto più che è una adulterazione assolutamente eccezionale e che si fa tutta a danno della povera gente la quale compera piccole quantità di caffè già pesato.

Per riconoscere questa sofisticazione, secondo il Bajardi, i procedimenti da adottarsi sarebbero facilissimi qualora si trattasse di una semplice sostituzione di polvere di sughero a quella del caffè, tenendo conto della proprietà delle polveri di sughero di galleggiare nell'acqua fredda o calda, acidificata o non acidificata, senza, anche dopo giorni, tingere l'acqua sottostante, ciò che non succede alla polvere del caffè, la quale a lungo andare, solo in parte galleggia e finisce col tingere l'acqua in giallo più o meno carico.

Ma in fatto non è certamente possibile che venga in mente a qualcuno di sostituire tale polvere a quella di caffè: tutt'al più può venirvi agginuta.

Occorre anzitutto cercare di separare questa polvere dal caffè e per far ciò bisogna spossare anzitutto la polvere di caffè in esame di maniera

che vada a fondo nell'acqua. Si prendono quindi 5-10 gr. di essa e si fanno bollire in 50 cmc. di acqua, meglio se acidulata con *HCl*; dopo 8-10' di bollitura si versa il materiale in un bicchiere a calice e si lascia raffreddare; la polvere di caffè torrefatto e spossato va a fondo, la polvere di sughero invece rimane a galla.

Se rimangono dei dubbi si può versare il liquido contenente la polvere invece che in un bicchiere a calice in un imbuto al cui collo si attacca un tubo di gomma stretto da una pinza.

Appena formatosi il deposito si apre la pinza, si fa cadere il deposito insieme a dell'acqua in un sottostante bicchiere a calice ripetendo l'operazione più volte con l'aggiunta di nuova acqua fino a che si è sicuri che tutto il caffè spossato sia venuto a separarsi.

Sopra un filtro di carta si raccoglie ciò che è rimasto galleggiante e lo si secca a dolce calore in una stufa qualsiasi; seccato si raccoglie e un pizzico si dibatte in una provetta contenente del xilolo.

In questo liquido il caffè spossato va a fondo, mentre la polvere di sughero rimane costantemente a galla.

Si può poi avvalorare la diagnosi di polvere di sughero prendendo un pizzico di quella che è rimasta secca sul filtro e stropicciandola sopra un foglio di carta bianca; in tal caso la carta si viene a tingere in nero.

La polvere di caffè spossato o no, tutt'al più imprime alla carta un colorito marrone.

Trattando poi la polvere, che rimane galleggiante nell'acqua bollente o meglio ancora nello xilolo, in un vetrino di orologio con acido cromoico, possibilmente in soluzione satura, se si tratta di polvere di sughero i frammentini non si sciolgono anche dopo 24 ore di azione a freddo, se invece si tratta di polvere di caffè si forma una poltiglia densa, omogenea bruna.

Esaminando al microscopio un po' del materiale indisciolti i frammentini di sughero appaiono costituiti da un reticolo a pareti sottilissime che circonda degli spazi poligonali; se si tratta di polvere di caffè nel campo microscopico, non si scopre nulla di ben definito.

Questo metodo si può anche adoperare direttamente sulla polvere del caffè sofisticato facendo agire sopra pizzichi della medesima, la soluzione satura di acido cromoico ed esaminando dopo 24 ore una goccia del materiale al microscopio. Però è sempre meglio cercare di selezionare prima il sughero dalla polvere per giungere a risultati più positivi.

Si potrebbero anche raccogliere i frammentini di polvere rimasti galleggianti sull'acqua bollente e farne delle sezioni, trattando poi queste, sotto il campo microscopico, con Sudan III col quale si sa che solo le pareti cellulari suberificate assumono una colorazione rosso-carminio caratteristica; però nel sughero torrefatto questa colorazione non è così netta e in ogni caso il procedimento è troppo incomodo perchè possa applicarsi nella pratica.

Le *polveri minerali* si riconoscono perchè sono particelle generalmente opache, amorfe che stridono sotto il vetrino coprogetti comprimendolo leggermente; sono quelle che cadono più presto al

fondo gettando il caffè torrefatto in un bicchiere di acqua. Trattate con acidi spesso danno effervescenza per la loro trasformazione in sali, oppure rimangono inalterate.

*Adulterazioni del caffè spossato.* — Il caffè spossato o esausto, da me stato di recente studiato, sfugge generalmente all'ispezione dei vigili e alle preliminari ricerche di laboratorio sia esso puro, perchè galleggia sull'acqua e perchè all'esame microscopico si mostra costituito dai soli elementi del caffè, sia mescolato con altre sostanze, come cicoria, ecc., perchè allora la prova del bicchiere e la prova microscopica conducono a ritenerlo caffè torrefatto, semplicemente adulterato.

Ora il caffè torrefatto spossato trovasi sotto forma di *chicchi interi, chicchi in frammenti, chicchi macinati o polvere di caffè.*

I *chicchi interi torrefatti spossati* non differiscono dai chicchi ordinari se non perchè hanno perduto in gran parte la lucidezza caratteristica. Del resto gettati in un bicchiere contenente acqua a temperatura ordinaria, o anche calda, galleggiano, sempre che siano bene asciutti. Macinati, la polvere di caffè da essi proveniente, galleggia benissimo nell'acqua fredda tingendo lentissimamente gli strati d'acqua sottostanti, salvo il caso che non siano stati più volte spossati, poichè allora l'acqua può anche non tingersi affatto. Nell'acqua calda sopra i 50° e nella bollente, sia o no acidificata con *HCl* al 5-10 ‰, i frammenti più grossi precipitano al fondo abbastanza rapidamente. Esaminata al microscopio, la polvere in discorso, senza bisogno del trattamento con l'etere o colla potassa o coll'alcool, si vedono i caratteristici elementi del caffè con i loro particolari di struttura (fenestrazione ecc.) abbastanza bene, perchè parte dell'olio fu portato via nelle prime bolliture.

I *chicchi frammentati torrefatti spossati* è più raro poterli osservare; ma, il fatto di trovarli in frammenti più o meno grossolani induce già l'ufficiale sanitario a un esame accurato.

Se si tratta di caffè spossato tali frammenti sono sforniti assolutamente di lucentezza. Gettati in un bicchiere contenente acqua alla temperatura ordinaria galleggiano. Se l'acqua è calda, e acidificata con *HCl* al 5-10 ‰, molti pezzetti vanno a fondo: però questa prova riesce assai meglio se si macinano. L'acqua fredda o non si tinge affatto o si tinge con straordinaria lentezza.

Esaminati al microscopio presentano gli elementi caratteristici del caffè molto bene distinti nei loro particolari.

Il *caffè torrefatto macinato e spossato o esausto* — *fondi di caffè* — viene smerciato molto comunemente e non è facile rico-

noseerlo dal vero caffè non spossato tanto più che spesso i rivenditori lo mescolano col caffè torrefatto macinato non spossato. Esso però ha un colorito meno scuro, tendente al marrone, e non ha l'odore gradevole caratteristico del caffè. Versato in un bicchiere a calice contenente acqua alla temperatura ordinaria, galleggia e generalmente anche dopo molte ore non tinge l'acqua sottostante.

Se l'acqua è bollente o calda, meglio se acidificata con acido cloridrico al 50 %, vanno a fondo, in pochi minuti, i pezzetti più grossi, formando un deposito, che, esaminato mostrasi costituito dagli elementi caratteristici del caffè con i loro particolari di struttura chiaramente visibili, come se fosse sgrassato.

A riconoscere se la polvere di caffè sia stata o no spossata e adulterata con altri materiali i procedimenti sono i seguenti:

1. *Procedimenti per riconoscere se una polvere di puro caffè sia stata spossata:*

a) La polvere di caffè si versa in un bicchiere a calice contenente acqua calda acidificata o non con *HCl* al 5-10 per cento. In 30 minuti circa, se il caffè è spossato, si depositano al fondo i pezzetti più grossi: se non lo è, si nota una leggera deposizione di frustoli, lungo le pareti, una tinzione giallognola dell'acqua, ma nessun frammento di chicco va a fondo, salvo qualche pezzetto molto grosso, specie se il caffè è stato macinato da molto tempo.

b) La polvere di caffè si versa in un bicchiere contenente acqua alla temperatura ordinaria (15°-25° C.). L'acqua, se si tratta di veri fondi di caffè, non si tinge neanche dopo 12 ore; se si tratta di polvere di caffè proveniente da chicchi frammentati torrefatti e spossati, si tinge, ma sempre più lentamente e meno di quel che faccia la polvere di vero caffè non spossato.

c) La polvere di caffè si tratta con xilolo od alcool assoluto (servono imperfettamente e non sono consigliabili l'etere solforico, l'etere di petrolio e la benzina), prendendone un pizzico e sbattendolo entro una provetta, contenente 10-15 cme. del liquido, per 1-2 minuti. Se il caffè è stato spossato, va tutto al fondo, mentre se il caffè non è stato spossato si forma uno strato galleggiante costituito da tutti i frammenti più grossi.

d) L'infuso a freddo di 4 ore di 5 gr. di polvere di caffè in 100 gr. di acqua distillata, filtrato, aggiunto di soluzione acquosa satura di laccamuffa, assume una colorazione rossastra se il caffè non è stato spossato, violacea invece se è stato spossato. L'operazione si fa aggiungendo in una buretta graduata una certa quantità di soluzione di laccamuffa a 25 cme. dell'infuso in un cilindro di vetro graduato. Si fa cadere perciò goccia a goccia la soluzione

di laccamuffa, agitando il liquido dopo l'aggiunta di  $\frac{1}{2}$  in  $\frac{1}{2}$  cme. Se il caffè è spossato, difficilmente si arrivano ad aggiungere 2 cme. di soluzione di laccamuffa a 10 cm. di infuso, senza ottenere una colorazione violetta. Se il caffè non è spossato, si possono aggiungere 10-15 cme. di soluzione di laccamuffa sino a riempire il recipiente senza riuscire a ottenere colorazione violacea.

e) L'infuso a freddo di 4 ore di 5 gr. di polvere di caffè in 100 cme. di acqua distillata, filtrato, si tratta con nitrato mercurioso e dalla quantità del precipitato si arguisce se il caffè sia stato spossato o no. All'uopo si prendono 10 cme. dell'infuso, si versano in tubo graduato sino a 10 cme. e del diametro di 1 cm., quindi si aggiungono 2 gocce di nitrato mercurioso. Si forma un precipitato che dopo varie ore (è bene attendere non meno di 6 ore) si depone al fondo, sebbene qualche fiocchetto rimanga aderente alle pareti del vaso. Se il caffè è stato spossato, difficilmente in un tubo graduato delle dimensioni indicate si ottiene un precipitato più alto di 1 cm., mentre se il caffè non è stato spossato, i precipitati sono sempre superiori ai 2 cm.

2. *Procedimenti per riconoscere se una polvere di caffè risulti da una mescolanza di caffè spossato e caffè non spossato.* — Il caffè torrefatto esausto, sia in chicchi, sia macinato, viene mescolato a caffè torrefatto non esausto. Riconoscere la frode in tal caso non è facile.

Se il caffè è in chicchi si possono scegliere quelli di aspetto opaco, macinarne una ventina separatamente l'uno dall'altro e poi fare per ciascuno la prova dell'alcool, o quella del xilolo.

Sia che questo primo saggio dia risposta positiva, sia che non la dia, si prendano 10 gr. del caffè, si macinino e si gettino tutti a poco a poco in un bicchiere a calice grande contenente acqua calda acida o no. Se fra i chicchi ve ne erano degli spossati, i loro frammenti più grossi vanno a fondo, sicchè dopo 30 minuti, se si è formato un deposito nel bicchiere a calice, può ritenersi che tra i chicchi ve ne erano degli spossati. Occorre però procedere anche a qualche altra ricerca, raccogliendo i frammenti precipitati.

A tal uopo, invece di un bicchiere a calice, è bene servirsi di un imbuto di vetro fornito nel collo di un rubinetto a smeriglio a forame largo o di un imbuto al cui collo si applica un tubetto di gomma, che si chiude con una pinza a molla. Trascorsi i 30 minuti, si apre il rubinetto o la molla e si lascia passare il precipitato in un sottostante recipiente che generalmente è un imbuto piano a molti fori coperti di carta bibula in vari strati.

Se il caffè è già polverizzato, non occorre fare alcuna operazione preliminare: si versa addirittura nel bicchiere a calice con-

tenente acqua calda o nell'imbuto, come ho ora indicato, e si raccolgono i frammenti precipitati rimasti sulla carta bibula.

Sia nel primo caso che nell'altro, le carte bibule si pongono a essicare, e, quando il materiale è asciutto, si fa la prova del xilolo o dell'alcool e quella dell'acqua fredda per osservare se si tingono gli strati dell'acqua dopo molte ore. Nei casi dubbi occorre raccogliere anche il caffè rimasto galleggiante sull'acqua calda, asciugarlo e procedere alle stesse prove, le quali debbono, invece che di caffè spossato, dimostrare la presenza di caffè non spossato. Raramente col materiale raccolto in superficie e al fondo, succede di dovere procedere a ulteriori ricerche: in ogni caso si può farne l'infuso (gr. 2.50 in 50 di acqua) e dopo 4 ore fare la prova della laccamuffa e del nitrato mercurioso.

Bisogna però che il materiale non sia rimasto a lungo nell'acqua calda (non più di 15-20 minuti), altrimenti anche quest'ultima prova può rimanere dubbia.

3. *Procedimenti per riconoscere se una polvere di caffè risulti dalla mescolanza di caffè torrefatto macinato spossato, aggiunto di materie eterogenee, e di queste più caffè non spossato.* — I fondi di caffè smerciati come polvere di caffè sono molto spesso mescolati con sostanze estranee, e per lo più con cicoria.

L'esame microscopico facilmente le disvela, unito ad altri saggi più o meno complessi sulla densità degli infusi e sul loro colorito. In pratica senza dover ricorrere al microscopio si può in qualche caso usufruire del colorito del liquido che filtra dopo il trattamento dell'infuso con nitrato mercurioso, o con acetato di piombo, o con cloruro stannoso, poichè, mentre tale liquido filtra limpido se l'infuso è di caffè, filtra invece più o meno giallo se l'infuso è di caffè e cicoria. Il metodo però non è molto sensibile e non giova sempre concentrare l'infuso per renderlo tale. Si può renderlo alquanto più sensibile, aggiungendo qualche goccia di cloroformio, sbattendolo in una provetta e poi lasciando in riposo il liquido filtrato per 5 o 6 ore. Se si forma un deposito lattescente si può sospettare la presenza della cicoria: se però al di sopra di questo il cloroformio rimane limpido, non si può giungere a tale conclusione (Clavenzani).

Dopo questa prova preliminare si versa la polvere in un bicchiere contenente acqua fredda e si lascia a sè per 12 ore. Se evvi caffè spossato, questo rimane galleggiante. Si raccoglie allora quest'ultimo e lo si sottopone alla prova dell'alcool o del xilolo. Se questa riesce positiva, il caffè può ritenersi spossato.

Nel caso poi che fondi di caffè e cicoria siano mescolati a caffè torrefatto macinato non spossato, si riconoscono i due caffè assai semplicemente. Si getta un po' della polvere in un bicchiere a calice o meglio nell'imbuto già descritto, contenente acqua calda. Si raccolgono i pezzetti precipitati, si seccano e si gettano in un altro bicchiere contenente acqua fredda. Se fra i pezzetti si trova del caffè, deve rimanere galleggiante su questo bicchiere, mentre la cicoria va a fondo. Nel primo bicchiere rimarrà quindi galleggiante il caffè non spossato, precipiteranno il caffè spossato e la cicoria; nel secondo rimarrà galleggiante il caffè spossato e andrà a fondo la cicoria.

Naturalmente, bisogna poi procedere all'esame microscopico di particelle del materiale che rimane galleggiante e che precipita, per giungere ad una diagnosi esatta.

### Thé.

Le foglie della *thea sinensis* vengono disseccate, dopo essere state alquanto torrefatte, e adoperate per fare il noto infuso di thé. Anche questo materiale alimentare viene facilmente falsificato con foglie di altre piante o colorando le foglie di thé di qualità inferiore in modo da dargli l'aspetto di quelle di qualità superiore o sostituendole con queste.

Per riconoscere se le foglie appartengono realmente alla *thea sinensis* non basta sempre l'esame macroscopico, perchè spesso sono frammentate: in questi casi quindi l'esame microscopico si rende necessario, dopo s'intende averne fatte le sezioni col rasoio. Si tratterà di foglie di thé quando in una sezione trasversale si osservano i seguenti strati (fig. 53).

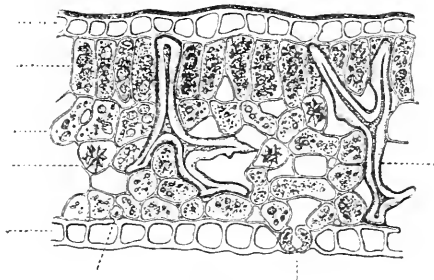


fig. 53.

1° l'epidermide superiore senza stomi, formata da un solo strato di cellule ricoperte di una spessa cuticola:

2° due strati di cellule a palizzata con grani di clorofilla;

3° un parenchima a lacune costituito da cellule rotonde con meatitra di loro, contenenti clorofilla o cristalli di ossalato di calcio;

4° grandi cellule sclerosate, ramificate che attraversano il parenchima e lo strato delle cellule a palizzata per sostenere la cuticola;

5° l'epidermide inferiore costituita da piccole cellule rettangolari con stomi e con peli unicellulari, specialmente nelle foglie giovani;

Le adulterazioni, e le sostituzioni del thé, in commercio sono molte e non sempre facili a scoprirsi. Il Pellegrini, che se ne è occupato, consiglia di mettere in rilievo i caratteri macroscopici e quelli microscopici.

Per l'esame macroscopico si rammolliscono i pezzi per 1-2 ore in acqua distillata a 60°, se ne dispiega bene ogni parte su una lastra di vetro e si notano i caratteri più salienti. Già la semplice ispezione mette in grado di poter escludere molte delle foglie che con quella del thé non hanno niente di comune, come quelle trigone del pioppo, le lobate della quercia, le fortemente dentate della fragola, le lanceolate e strettissime del litospermo, le lobate a lobi dentati del cratago. Anche le foglie della *rosa canina*, della *veronica officinalis*, del *prunus spinosa* è facile riconoscerle per la esiguità delle dimensioni. Le specie, fra le descritte, le cui foglie prese in complesso potrebbero apparire simili, se non identiche a quelle del thé (*laurus*, *fagus*, *sambucus*, *fraxinus*, *salix*, etc.) si differenziano tenendo conto delle nervature e della configurazione del lembo. Questo è intero ed ondulato nel lauro e nel faggio, con dentellature rudimentali nel *salix caprea*, a denti marcantissimi nel sambuco e nel frassino.

Per l'esame microscopico, rammolliti i pezzi come sopra, si eseguono sezioni trasverse, giovandosi a preferenza di quelli che recino breve tratto della nervatura mediana, giacchè è in corrispondenza della medesima, e, quando esistono, sono disposti gli elementi sclerosi.

Quindi si prende nota dello spessore delle foglie, perchè l'A. dopo ripetuti raffronti in diverse condizioni e negli stati di sviluppo più differenti, ha potuto fissare i confini entro cui lo spessore oscilla nelle singole specie, e riunire in tre gruppi le foglie: nel primo quelle che misurano meno di 120  $\mu$  di spessore, nel secondo quelle che misurano fra 120 e 200  $\mu$ , nel terzo quelle che misurano da 200  $\mu$  in su.

Nel secondo gruppo, in cui si trovano le foglie della *thea sinensis* e delle sue varietà, stanno quelle della *rosa canina*, del *fraxinus excelsa*, del *quercus robur*, del *crataegus oxyacantha*, della *veronica officinalis*, del *populus malus*, del *laurus nobilis*, dell'*olea europea*.

Per differenziarle si cercano i peli, giacchè variano nelle singole foglie: sono lunghissimi pluricellulari nel faggio, pluricellulari e più corti nella quercia, clavati e ghiandoliferi nella rosa. Per la veronica i cui peli potrebbero confondersi con quelli unicellulari del thé, non si trovano stereidi nello spessore dello



strato lacunoso. Nel *populus* si trova che l'uniformità degli strati a palizzata è rotta ad intervalli dalla presenza di grosse cellule sferiche completamente prive di clorofilla, nel *crataegus* e nel *fraxinus* si nota l'esistenza di elementi ramosi componenti l'ipofillo.

### Cacao e Cioccolatte.

I semi torrefatti della *theobroma cacao* polverizzati costituiscono la polvere di cacao. Con questa poi, aggiunta di zucchero e aromatizzata, si fanno i pani e le tavolette di cioccolatte.

Nella polvere di cacao si rinvengono una serie di elementi (fig. 54) oltre i quali non debbono trovarsene altri, e cioè:

1° granuli d'amido ovali, rotondi od a biscotto, grandi generalmente 3-4  $\mu$ ; ma spesso 6-10  $\mu$  senza ilo e stratificazioni visibili, attivi alla luce polarizzata;

2° varie specie di cellule, cioè cellule amilifere, poliedriche, contenenti una sostanza violetta, cellule appiattite brunastre, cellule allungate disposte a vari strati, cellule sclerosate con pareti spessissime, frammenti di trachee;

3° i corpuscoli di Mitscherlich che sono dei peli pluricellulari, giallastri, i quali sono molto rari a trovarsi, perchè appartengono allo strato più esterno del seme, mentre la polvere di cacao deriva in massima parte dal grano privo del suo involuero.

Tutti questi elementi si mettono bene in evidenza trattando la polvere di cacao e rispettivamente i semi o le tavolette pestate con alcool od etere e poi con acqua, così come si procede per il caffè.

La sofisticazione più frequente consiste nel mescolare alla polvere di cacao, quella della scorza del seme; è allora, che si dica in contrario, che sono numerosissimi i corpuscoli di Mitscherlich e che si vedono cellule sclerosate giallastre, trachee più o meno numerose, e cellule parenchimatose brunastre.

Segue la sofisticazione, con l'aggiunta di amidi, per lo più fecole, di cui già si ha un indizio aggiungendo cacao in una provetta contenente acqua e facendolo bollire: al liquido ottenuto si aggiunge molta acqua e poi qualche goccia di tintura di iodio. Se l'amido era stato aggiunto, il liquido rimane bleu; in caso diverso si ha una sfumatura bleu che scompare agitando. L'esame microscopico poi completa la ricerca.



fig. 54.

Nel *cioccolato*, si trovano gli stessi elementi della polvere di cacao, più quelli che vengono aggiunti per renderlo anche più piacevole al palato e che bisogna badar bene di non confondere con sofisticazioni.

Queste del resto sono numerosissime, poichè il materiale si presta molto a commetterle, senza farle scoprire. Si può trovare dell'amido e specialmente amido di castagna, segatura di legno, polvere di marmo, ecc., per la ricerca dei quali si procede come abbiamo già indicato nei capitoli riguardanti l'esame del caffè.

### Zucchero e Miele.

Lo *zucchero* viene spesso a scopo di frode mescolato con sostanze diverse, come amidi e polvere di marmo.

Per riconoscere queste sostanze si scioglie in un bicchiere a calice contenente acqua lo zucchero in esame e si esamina sia il deposito, sia ciò che può trovarsi alla superficie. Se si tratta di amido la diagnosi è ovvia, se si tratta di marmo basterà aggiungere una goccia di acido solforico al preparato per avere i cristalli agghiformi di solfato di calcio.

Il *miele* viene per converso il più delle volte sofisticato collo zucchero di canna. Si riconosce la sofisticazione perchè, accanto ai cristalli romboidali piatti e sottili o allungati, agghiformi del miele che sono misti a granuli di polline (fig. 55 *B-a*) e spesso

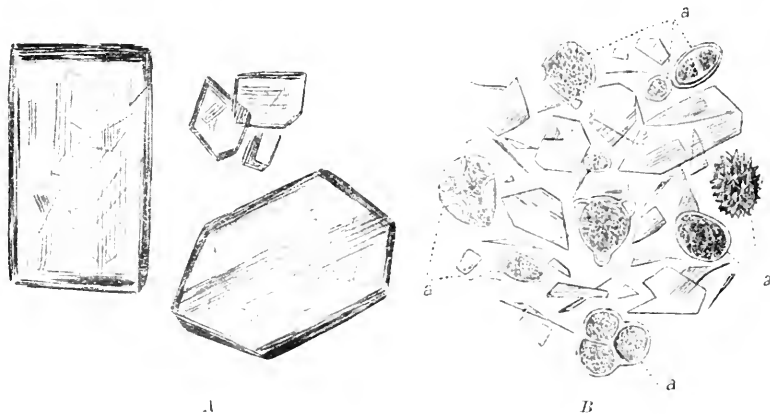


fig. 55.

a cera, si trovano i grossi cristalli dello zucchero che risaltano benissimo (fig. 55-A). Quando questi non si trovino, ma si vedano

degli elementi vegetali più o meno numerosi e dei granuli di amido, la sofisticazione è stata fatta con sciroppo di fecole.

Data la presenza di granuli di polline sarebbe interessante riconoscere quelli che ingeriti sono causa di disturbi gastrici, come sono i granuli di polline, dell'*aconitum napellus*, e *lycottonum*, ecc., però non è sempre possibile differenziarli, o almeno, occorre avere in questo genere di ricerche una pratica che non è per lo più facile acquistare.

Si è anche tentato di riconoscere se il miele sia puro o sofisticato con altre qualità di zucchero, servendosi della sieroreazione. A tal uopo il Rigler inocula conigli ripetutamente con miele puro e col siero di questi animali tratta soluzioni di miele puro, e di miele sofisticato. L'A. ha trovato che questo procedimento è utilizzabile solo per riconoscere quelle sofisticazioni del miele nelle quali si tratta di un materiale che non contiene affatto miele: se si tratta di una semplice mescolanza il risultato è incerto, anzi per lo più si finisce coll'ottenere lo stesso risultato che si ha quando si tratta di miele puro.

### ESAME MICROSCOPICO DELLE DROGHE E DELLE SPEZIE.

Si chiamano *droghe e spezie* quei derivati da cortecce, fiori, frutti, radici, ecc. di piante esotiche che servono in gastronomia come condimenti, ed entrano nella confezione di molte sostanze destinate all'alimentazione.

Tra le principali vanno citati il *pepe*, lo *zafferano*, la *cannella*, i *garofani*, le *noci moscate*.

#### Pepe.

Il pepe è la bacca disseccata del *piper nigrum*, e si trova in commercio tal quale, oppure macinata sotto forma di polvere di pepe, la quale può essere *scura* o *nera* come si dice, se la bacca viene triturrata tal quale, *bianca* se è stata prima macerata nell'acqua salata o di calce per decorticarla.

Il pepe viene anzitutto *falsificato in grani*. A tal uopo si ricorre ad impasti di farine diverse insieme a un po' di polvere di pepe. Si riconoscono però facilmente i grani artificiali, gettandoli in un bicchiere a calice pieno d'acqua, dove essi vanno a fondo e dopo un certo tempo si disgregano, mentre il vero pepe galleggia, salvo la specie pesante del Malabar e i vecchi grani di pepe bianco (Ber-

tarelli) i quali vanno a fondo ma non si disgregano. Si possono in questi casi usare delle miscele di acqua e glicerina (densità 1,080 — 1,110) nelle quali i grani di pepe bianco galleggiano, mentre quelli di pepe artificiale cadono al fondo (Bertarelli). È utile nei casi dubbi far bollire a lungo in un recipiente chiuso i granuli: se sono di pepe falsificato, è facile vederli già spappolati nell'acqua; se di pepe vero sono soltanto rigonfiati. Chi abbia un autoelave può fare la prova mettendoveli dentro per un'ora. Prendendo dopo un granello di pepe falso fra il pollice e l'indice e comprimendolo, si spapperà senz'altro, mentre prendendone uno di pepe vero si spaccherà semplicemente.

Naturalmente l'esame microscopico del materiale assoda la diagnosi.

Se si tratta di *pepe vero* si devono trovare i seguenti elementi:

Nel *pepe nero* (fig. 56), molte cellule sclerosate a pareti spesse con fessure dall'interno all'esterno della parete, ammassi di cellule

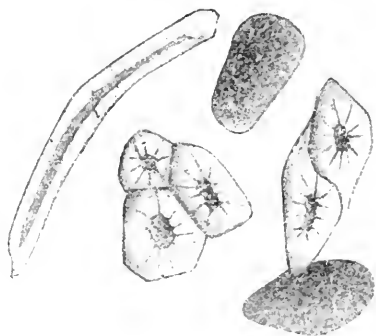


fig. 56.

poligonali a pareti esili, frammenti di fasci, fibre avvolte a spira, trachee, cellule quadrangolari a pareti spesse, addossate a elementi cellulari brunastri, cellule contenenti goccioline di olio, altre poligonali o d'altra forma contenenti fini granuli amilacei che del resto possono trovarsi anche liberi.

Nel *pepe bianco*, siccome deriva dai granuli decorticati, mancanza, almeno in quasi tutte le qualità, delle cellule sclerosate allungate a pareti canalicolate, minor numero di fasci fibrolegnosi anzi qualche volta presenza di sole trachee, e nel restante gli stessi elementi del pepe nero.

Se invece non si tratta di *vero pepe*, potranno trovarsi gli elementi più diversi, perchè innumerevoli sono le falsificazioni e le adulterazioni che si fanno di questa droga, specialmente se polve-

rizzata. Ne sono stati trovati formati di amido di mais, di frumento, di noccioli di ulivo, peperoni di Spagna e gomma (Bertarelli), di frumento, lignina (1), polveri di peperoni (così si fanno le così dette coccole insetticide), di frumento e lignina (Grimaldi), di frumento, cascame di pepe, destrina e polvere di carbone. La *principale sostituzione* consiste: nell'usare la polvere dei peduncoli, dei ramoscelli, del rivestimento del seme. Questa polvere è ricchissima di fasci fibrolegnosi, di trachee, di fibre pericicliche o a spirale, e non contiene i caratteristici elementi sclerosati del pepe, le cellule oleifere ed amilifere. Essa sarebbe facilmente riconoscibile al microscopio; ma per lo più viene mescolata a terra e ad altri materiali per cui diventa a sua volta pressochè inidentificabile.

Le *principali adulterazioni* consistono nel mescolare alla polvere di pepe, quella sopra ricordata; la polvere di noccioli di ulivo che è facile riconoscere per le lunghe fibre fusiformi incolori non fenestrate e per il gran numero degli elementi sclerosati a parete fessurata che hanno un contenuto incolore, mentre quello del pepe è brunastro, e la parete ha una tinta verdastra, mentre quella del pepe è gialliccia; amidi e fecole insieme agli elementi della crusca o della buccia, i quali tutti sono più o meno prestamente diagnosticabili tenendo presenti i caratteri già addotti nell'esame delle farine; la polvere di ghiande, che si riconosce dai granuli di amido di forma irregolarmente allungata od ovale a contorni irregolari, con ilo a lente biconvessa, i quali si accompagnano a elementi cellulari parenchimatosi (di cui alcuni contengono ancora dei granuli di amido) disposti in lembi più o meno grandi; la segatura di legno che si rivela per il gran numero degli elementi legnosi ecc.; la polvere di scorza di nocciole che è ricchissima di cellule sclerosate assai simili a quelle dei semi di ulivo e quindi differenti da quelle del pepe stesso; le polveri minerali, variabili per provenienza, amorfe per lo più, generalmente stridenti sotto il vetrino, precipitanti al fondo di un bicchiere a calice, contenente acqua, assai più rapidamente di tutti gli altri elementi del pepe puro o adulterato.

Nella pratica per diagnosticare di quale sofisticazione si tratta secondo il Collin e il Villier l'osservatore comincerà anzitutto con l'esaminare una polvere di pepe dopo averla fatta macerare per circa dodici ore in una soluzione acquosa di cloralio all'8 per 100. Quando in seguito all'osservazione di cinque o sei preparati, ci si

(1) La lignina o legnoso, consiste di polvere di noccioli di ulivo, di dattero, di palma, di mandorle, di noce, di nocciole e si chiama, nel caso del pepe, pepina o pepolina.

sarà reso conto della relativa proporzione dei diversi elementi del pepe in esame, allora solo si procederà all'esame del pepe sospetto previamente sottoposto alla suddetta macerazione.

1. *Verificando nella polvere sospetta un eccesso di amido*, — se questo amido è più piccolo di quello del pepe, se è racchiuso in cellule fusiformi, e se a lato di queste cellule si rinvencono delle cellule epispermiche brune, fusiformi, a pareti spesse ed incurvate, delle cellule sclerose, brune, a lume puntiforme e delle cellule trasversali regolari, si concluderà per la presenza di *cardamomo*.

Se l'amido è in piccoli grani chiusi entro cellule poligonali allungate, se vicino a queste cellule si osservano delle cellule epispermiche a parete molto sinuosa e dei detriti di tegumenti con delle lacune tondeggianti, vuol dire che c'è del *grano saraceno* o *frumento nero*.

Se l'amido è in grani molto voluminosi e striati concentricamente e se questi grani sono accompagnati da larghe cellule epidermiche a parete sottile e da trachee ben sviluppate o da vasi molto larghi, nella polvere ci saranno i *residui della preparazione della fecola di patate* o delle *specie d'Alvernia*.

Se l'amido è in grani ovoidali molto grossi ed accompagnati da cellule sclerose a parete mediocrementemente spessa e dentellata a guisa di sega vi sarà aggiunto del *miglio* o dell'*orzo*.

Se l'amido si presenta in grossi grani striati concentricamente e parallelamente, sotto forma di pera allungata o di bottiglia, e accompagnati da fibre, da grossi vasi raggiati e da cellule resinose, si sospetterà la presenza dei *vizomi di galanga*.

2. *Verificando la presenza di numerose cellule sclerenchimatose prive di materia brunastra*, — se queste cellule sono molto irregolari nella loro forma e se sono tutte munite di pareti molto spesse e canalicolate, si potrà sospettare l'aggiunta di *sansa di olive*.

Se queste cellule sono un poco più regolari e se qualcuna di esse è provvista di pareti assai meno spesse e punteggiate, sarà indizio della presenza di *gusci di nocce*.

Se queste cellule sono a pareti spesse e raggiate, se hanno dimensioni ineguali e se le cellule epidermiche sono munite di peli marginali conici, corti ed unicellulari, vi sarà ragione di sospettare la presenza di *gusci di nocciuole*.

3. *Verificando la presenza di numerose goccioline di olio entro cellule poligonali irregolari, e di detriti colorati di episperma*, — se questi ultimi sono ricoperti da una rete a maglie esagonali, se presentano una tinta bruno-scuro si concluderà per la presenza di *mostarda nera*.

Se invece sono colorati in giallo pallido, se sono regolari ed accompagnati da cellule poligonali che presentano delle striature concentriche e da cellule poligonali più piccole, a pareti rifrangenti, piene di corpuscoli, vi sarà stata aggiunta della *mostarda bianca*.

Se vi sono detriti bruni, con strie molto larghe e sinuose, si tratterà di *sansa di arachidi* o *pistacchi di terra*.

Se sono colorati in bruno cupo e accompagnati da cellule fusiformi ricoperte da un lato con cellule rotondegianti e dall'altro con cellule trasversali, regolari, vi sarà aggiunta della *sansa di lino*.

Se sono rotondi, finamente striati e accompagnati da grosse cellule parenchimatose a pareti molto spesse e sinuose, vi sarà aggiunta invece della *sansa di canapa*.

4. *Verificando la presenza di gruppi di cellule regolari e punteggiate* che delimitano degli stomi disposti irregolarmente, delle cellule a palizzata e alcune cellule sclerose a pareti mediocrementemente spesse, vi saranno aggiunte *foglie di lauro*.

5. *Verificando la presenza di grosse ghiandole otriculari e di piccole ghiandole unicellulari* sopra dei frammentini di epiderma muniti di stomi disposti perpendicolarmente al tramezzo che separa due cellule vicine si rivelerà l'esistenza delle *sommità fiorite di Labiate (timo, pepolino, ecc.)*.

6. *Verificando la presenza di grosse cellule sclerenchimatose e bernoccolute, a pareti molto spesse e sinuose*, accompagnate da cellule contenenti una materia colorante rossa e da cellule sclerose a pareti più sottili e sinuose, si concluderà per l'aggiunta di *pepe di Cajenna*.

7. *Verificando la presenza di numerose cellule sclerose intrecciate in vario senso*, di cellule ispessite e contenenti dei granuli di aleurone e dei cristalli a rosetta si rivelerà l'aggiunta di *polvere di coriandolo*.

8. *Verificando l'abbondanza di detriti fortemente colorati*, di fibre molto spesse, di cellule sclerose molto larghe, a pareti punteggiate e poco spesse separate da grandi meati e la presenza di lunghi peli marginali conici, uniseriati e pluricellulari sarà permesso di sospettare l'aggiunta di *frantumi residuali di pepe*.

9. *L'abbondanza di cellule epidermiche, di fibre spesse e di cristalli semplici od agglomerati* rivelerà l'esistenza probabile di una *polvere di scorze diverse*.

## Zafferano.

Lo zafferano genuino (*stimmi del crocus sativus*, pianticella bulbosa della famiglia delle Iridacee) ha un prezzo molto elevato e per tale ragione è continuamente l'oggetto delle più diverse frodi, le quali poi si compiono quasi tutte a danno dei consumatori al minuto. Ora queste frodi sono tanto più frequenti e tanto meno facili a scoprirsi quando appunto lo zafferano viene posto in vendita polverizzato.

Le frodi consistono il più di sovente nell'aggiunta di polveri minerali o di polveri vegetali che posseggono un colorito simile a quello della polvere di zafferano e nell'aggiunta di sostanze colorate artificialmente e previamente spalmate di olio, glicerina, miele, ecc.

Il microscopio e qualche semplice reazione chimica caratteristica, sono i presidi necessari per l'accertamento e la diagnosi della frode.

Gli elementi di una polvere di zafferano genuino (fig. 57) sono caratterizzati dalla presenza di protuberanze molto bene appa-

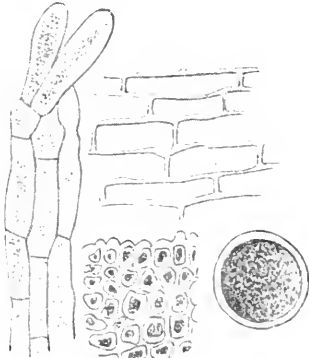


fig. 57.

riscenti sulle cellule epidermiche che sono sensibilmente rettangolari o leggermente poligonali; di papille numerose nella parte superiore degli stinmi; di un grande numero di trachee molto fine ed orlate di cellule fusiformi; di granuli di polline di forma arrotondata e di aspetto liscio.

Un mezzo rapido per svelare la frode nello zafferano polverizzato, consiste nel prenderne una piccola quantità e distenderla su di un vetrino portaoggetti; sopra ci si versa una goccia di acido solforico concentrato,

si copre con un vetrino coprioggetti e si esamina rapidamente il preparato a debole ingrandimento. I frammenti di zafferano puro si vedranno colorati in azzurro cupo che passa al violaceo e circondati da una zona liquida dello stesso colore. Se nel preparato si osserva qualche particella o qualche frammento il quale non presenta la stessa tinta, si può allora sospettare la frode; nel qual caso si procede ad un esame più accurato e ad una determinazione rigorosa degli elementi estranei.

Bisogna essere rapidi nella prova, perchè la tinta bleu-violeacea prodotta dal contatto dell'acido solforico con lo zafferano è molto instabile.

Si può anche meglio agire come segue: si mette a fuoco il preparato e tenendo l'occhio all'oculare si depone una goccia di acido solforico su uno dei lati del coprioggetti, per modo che l'acido si insinui tra i due vetri, si notano così le modificazioni di colore che assume la polvere appena viene investita dall'acido. Se appare subito una colorazione viola intensa, vuol dire che la polvere contiene orange- $\beta$ -naftolo; se si ha colore azzurro che poi passa al verde e al bruno vi è dello zaffranone (*carthamus tinctoria*).

Le polveri vegetali che si aggiungono a scopo di frode sono la polvere di radice di curcuma (*curcuma longa*) facile a mettersi in evidenza per la colorazione azzurra a contatto con una goccia di liquido di Lugol che assu-



mono i frammenti più o meno voluminosi formati da cellule molto larghe, irregolari e ripiene di salda d'amido. Insieme poi alle cellule amilacee si osservano al microscopio delle cellule più piccole che contengono una materia resinosa di un bel giallo d'oro e dei vasi striati e limitati da cellule fusiformi a pareti piuttosto spesse. Si notano ancora dei granelli di fecola appiattiti, ellittici od ovoidi spesso prolungati, ad una delle loro estremità, in una breve punta smussata e talora anche troncati: presso l'estremità afilata si scorge l'ilo e generalmente si distingue nel granello una serie di strati concentrici.

La *polvere di legno di Sandalo rosso* (*ptercarpas santalinus*) si rivela dall'esame microscopico che mette in evidenza le fibre legnose, munite di pareti molto spesse e che conservano il loro colorito rosso anche se trattate con glicerina acetica: oltre a queste si nota l'esistenza di frammenti di vasi legnosi molto larghi e regolarmente punteggiati, di cellule punteggiate provenienti dal parenchima legnoso e la presenza di un grande numero di cristalli prismatici di ossalato di calce, racchiusi entro piccole cellule sovrapposte e aderenti alle fibre legnose. Nelle cellule e nei vasi si possono talora riscontrare dei piccoli granuli e delle goccioline di una materia colorante di un intenso e magnifico rosso (*santalina*), che vi si trova nelle proporzioni di circa il 16 p. 100. L'alcool le dissoglie immediatamente e il liquido diventa rosso; la potassa caustica del pari le discioglie, assumendo un colore violetto e colorando nel tempo stesso in violetto le pareti cellulari.

La *polvere di legno di Fernambuco* (*caesalpinia crista*) albero delle foreste del Brasile e della Giamaica molto ricco di una sostanza colorante rossa facilmente solubile nell'acqua, è caratterizzata dalla presenza di grossi vasi sereziati, di fibre legnose più o meno frammentate, sia isolate che riunite in fasci, da detriti di parenchima legnoso formato da cellule lunghe a pareti spesse, e punteggiate, da raggi midollari isolati o aderenti a dei frammenti più o meno voluminosi di segatura. Qualche volta si possono ritrovare anche qui dei cristalli prismatici di ossalato di calce nelle cellule aderenti alle fibre.

La *polvere di legno di Campeggio* si riconosce facilmente perchè colora la saliva in rosso scuro ed ha un sapore astringente zuccherino.

La *polvere dei fioretti di Cartamo* presenta al microscopio i seguenti caratteri: cellule irregolarmente poligonali più lunghe che larghe; piccole papille arrotondate molto meno appariscenti e meno grosse di quelle che si osservano sugli stimmi dello zafferano. Le cellule epidermiche della corolla contengono granelli di una materia colorante rossa e di un'altra gialla. Si notano ancora frammenti di piccoli fasci fibro-vascolari, cellule quadrangolari o leggermente arrotondate, trachee sottili, ed infine granuli di polline che sono molto più piccoli di quelli dello zafferano, a superficie verrucosa con tre angoli arrotondati provvisti di t e pori molto evidenti.

La *polvere dei semi-fioretti del Fiorrancio* è caratterizzata da cellule dell'epidermide della corolla, molto strette, allungate, rettangolari o leggermente poligonali e contenenti una sostanza colorante di un bel giallo aranciato in forma di goccioline piuttosto grosse ed ovali; si osservano ancora dei peli, uniseriati o biseriati e pluricellulari, conici. Questi peli possono

essere corti e composti di due cellule poligonali che si fanno via via più piccole a misura che si allontanano dalla base del pelo che è molto larga. Qualche volta questi peli sono pluriseriati per i tre quarti inferiori della loro lunghezza e uniseriati nella loro parte superiore. Esaminando poi minutamente al microscopio la polvere dei semi-fioretti del Fiorrancio si scorgono qua e là dei granuli di polline che non sono a superficie liscia come quelli dello zafferano, ma irti di piccole punte coniche, notevolmente più piccoli di quelli del Cartamo, di forma pressochè triangolare e muniti anch'essi di tre pori bene evidenti.

La polvere dei fiori di *Melagrano*, riconoscibile al microscopio per il fatto che la corolla dei fiori di melagrano è ricoperta da una epidermide formata da cellule irregolari a pareti ondulate e rivestite da una cuticola nettamente striata. Nella parte superiore della corolla le cellule epidermiche assumono la forma di papille molto prominenti; nella parte inferiore esse sono allungate ed ugualmente striate. I granuli del polline sono ovoidali o triangolari ed il parenchima compreso fra le epidermidi della corolla contiene dei cristalli stellati di ossalato di calcio.

La polvere dei fiori di *Arnica* è facilmente riconoscibile per la quantità e varietà dei peli che aderiscono alla corolla, unicellulari, pluricellulari, uniseriati, conici e variamente accoppiati e disposti a forma di un ciuffo di penne, del tutto caratteristico. Si noteranno ancora delle cellule epidermiche della corolla della porzione filamentosa del fiore, alcune disposte a forma di papilla, altre irregolarmente poligonali allungate e striate. I granuli di polline sono irti di papille molto appariscenti e sono più piccoli di quelli dello zafferano.

È stata anche rilevata nella polvere di zafferano la presenza di frammenti finissimi delle *tuniche di cipolla* dissecate e colorate artificialmente e la presenza di polvere di *peperone rosso*, *fecole*, *destrina*, *carne*, *gesso*, *creta*, *sabbia*, *borace*, *solfato di soda* e di *bario*, *cloruro di sodio*, *nitrato di potassa*, *cremor di tartaro*, *tartrato di bari* e di *potassio* (crema di tartaro solubile), *limatura di piombo* e *polvere di smeriglio*; tutte sostanze che vengono spalmate di olio, di glicerina o di miele e quindi colorate artificialmente e profumate con la tintura di zafferano.

La sofisticazione dello zafferano in polvere è giunta fino al punto di far passare per zafferano una polvere costituita essenzialmente di *giallo Vittoria*.

Esso infine può venire messo in commercio dopo essere stata spogliato in tutto od in parte della sua materia colorante mediante uno speciale trattamento con alcool. Questa polvere di zafferano esausto si riconosce facilmente: essa ha poco o punto odore; il suo colorito ha perduto di intensità, è di un rosso pallido, talvolta quasi giallo; tinge appena la saliva in giallo; messa a contatto con l'acqua la colora debolmente. Naturalmente queste differenze sono meglio apprezzabili quando si fa una esperienza comparativa con dello zafferano di buona qualità (1).

(1) Ho tratto tutto questo capitolo su lo zafferano da una rivista sintetica sulle sofisticazioni dello zafferano in polvere e sui mezzi per renderle evidenti, compilata dal dott. A. Bajardi: lo stesso si dica di ciò che si riferisce alle adulterazioni del pepe polverato.

## Cannella.

La cannella è la corteccia di diversi alberi del genere *cinnamomum*. In commercio se ne distinguono generalmente due specie, quella di Ceylan e quella della China, di cui la prima è più apprezzata. Si vende in cannelli o scorze arrotolate su se stesse, ed in polvere.

Gli *elementi della cannella di Ceylan* (fig. 58 *a, b*) sono rappresentati da cellule fusiformi molto lunghe a pareti spesse, fessurate

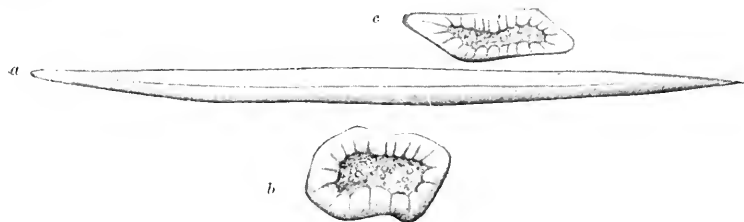


fig. 58.

longitudinalmente, da cellule sclerosate, allungate, rotondegianti a pareti spesse, con fessure nella membrana dallo interno verso l'esterno e a contenuto giallo; da cellule amidifere, con granuli di amido piccolissimi, ed oleifere contenenti anche cristalli di ossalato di calcio.

Gli *elementi della cannella di China* sono gli stessi della cannella di Ceylan (fig. 58-*a, c*); però le cellule sclerosate sono più larghe e tendono alla forma quadrangolare, le cellule amidifere sono più numerose; i granuli di amido più grandi ed in essi visibile un ilo. Di più vi sono cellule suberificate che si presentano come elementi a membrana spessa, a contenuto bruno, a contenuto resinoso, generalmente disposte a strati, nei frustoli.

La *sostituzione che si fa alla cannella in scorza* consiste nel vendere per cannella di China o di Ceylan, cannelle ancora più scadenti. In tal caso l'esame microscopico può ben poco, tutt'al più si riesce a dichiarare la sostituzione della cannella di Ceylan con altre cannelle, come con quella di China.

Le *adulterazioni più comuni alla polvere di cannella* consistono nel mescolare alla stessa la polvere di nocciole, di scorza di noce, di mandorle, ossia elementi facilmente riconoscibili per il gran numero di cellule sclerosate che contengono, le quali sono poi del tutto incolori, mentre quelle della cannella sono gialle. La

cannella, come il pepe, viene anche adulterata con polveri minerali, ed esse si riconoscono nella stessa maniera.

La *cannella* sia in scorze che in polvere si vende subdolamente molto spesso *spossata*, ossia precedentemente esaurita coll'alcool o col vapor d'acqua per estrarne l'essenza. Al microscopio si sospetta la frode per la chiarezza degli elementi, per la mancanza o quasi di goccioline oleose e per la scarsezza delle cellule oleifere.

Questa cannella polverizzata *spossata* viene poi a sua volta aggiunta a cannella non *spossata*: in tal caso riconoscere la frode diventa impossibile mediante il semplice esame microscopico.

### Garofani.

I garofani sono i bottoni floreali del *caryophyllus aromaticus*. In commercio si trovano quelli inglesi che sono più apprezzati e quelli di Borbone e di Cajenna: questi ultimi sono i più scadenti. Generalmente i garofani si vendono intatti col nome di *chiodi di garofani*, ma possono trovarsi anche sotto forma di polvere.

I *chiodi* vengono frequentemente venduti già *spossati*, ossia esauriti con alcool o vapor d'acqua per estrarne l'olio essenziale; più raramente s'istituiti addirittura con impasti di farine, cui si dà la forma del chiodo, ai quali impasti si dà l'odore aggiugnendovi un po' di olio essenziale.

Per riconoscere tali frodi si trituranò e si esaminano al microscopio. Già durante la triturazione se sono stati *spossati* si frammentano abbastanza facilmente, mentre se non sono stati *spossati*, i frammenti si rompono meno facilmente e si attaccano al pestello e alle pareti del mortaio. L'esame microscopico completa poi la diagnosi.

Se si tratta di *chiodi di garofani veri* (fig. 59) si troveranno

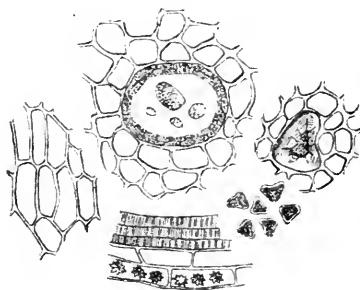


fig. 59.

delle cellule epidermoidali isolate o addossate a glandole ad olio essenziale; lunghe fibre fusiformi, cellule contenenti cristalli di ossalato di calcio, grani di polline triangolari e forniti di tre pori, fasci fibrolegnosi, goccioline di olio.

Se si tratta di *chiodi di garofani spossati*, si troveranno gli stessi elementi, ma scarse o assenti saranno le goccioline di olio, ben visibili le ghiandole oleifere

e coi loro elementi chiarissimi, ecc.

Se si tratta di chiodi di garofani artificiali, si opera nello stesso modo usato per riconoscere i grani di pepe artificiali.

In quanto alla polvere di garofani è così poco comperata che non varrebbe la pena di parlarne: essa ad ogni modo può venire adulterata con polvere di chiodi di garofani spossati o di qualità inferiore, con quella dei più diversi semi, con polveri minerali. La sofisticazione più comune consiste nell'aggiungere la polvere dei pedicelli floreali della stessa pianta che si riconosce facilmente all'esame microscopico per la presenza di gran numero di lunghe fibre a pareti spesse, di cellule sclerosate, ecc.

### Noce moscata.

La Noce moscata è il grano della *myristica fragrans* la quale si vende per lo più in grani, raramente sotto forma di polvere.

Le noci intere possono essere sostituite con noci artificiali che si riconoscono nello stesso modo dei grani di pepe e di garofani artificiali. Si vendono anche, in parte sostituite quando per una causa qualunque per es. per opera di insetti, manca qualche pezzetto al nocciolo; e tale sostituzione parziale si fa con pasta di farina. Essa si riconosce dopo la macerazione in acqua. Sono anche fraudolentemente messe in commercio spossate, cioè private del grasso, il così detto burro della noce moscata: però più che coll'esame microscopico, questa frode si diagnostica con mezzi chimici. Il microscopio non fa che sospettarla per la mancanza del grasso o la scarsezza dello stesso.

Sotto forma di polvere la noce moscata si adultera con gli stessi elementi coi quali si adulterano le altre droghe. Le frodi si riconoscono cercando gli elementi caratteristici della noce moscata, e vedendo se ve ne siano altri che non sono propri di essa.

Gli elementi caratteristici della noce moscata (fig. 60) sono i seguenti: cellule poliedriche appiattite a pareti finamente colorate in bruno contenenti anche cristalli di

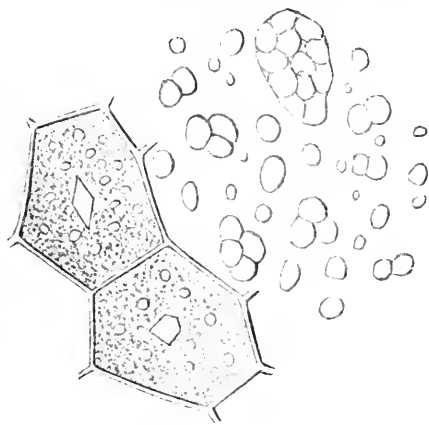


fig. 60.

materia grassa, cellule parenchimatose poliedriche a pareti sot-

tili, contenenti amido, cellule a pareti sottili brunastre o granulose contenenti materia grassa, la quale fuoriesce facilmente nelle preparazioni e maschera le altre parti della polvere e che si presenta in masse giallastre amorfe ed anche in cristalli.

### ESAME MICROSCOPICO DELLE CONSERVE DI VERDURE.

Fra le varie salse commerciali, si trovano alcune conserve, la più comune delle quali è quella di *pomodoro* (preparata, dal succo — mesocarpo — del *solanum lycopersicum* per fermentazione, per cottura e disseccazione).

L'esame microscopico di essa, *quando si tratta di conserva ben fatta* in cui non entra che il solo mesocarpo, fa vedere grandi cellule ovali o rotondeggianti (fig. 61) (nelle quali si osserva qualche grano di amido e degli ammassi amorfi di sostanza colorante) e dei fasci librolegnosi.

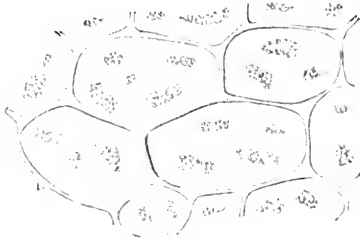


fig. 61.

Quando invece trattasi di *conserva mal lavorata*, si trovano anche elementi dello spermoderma, quindi cellule poligonali a pareti spesse, liscie o punteggiate, con pigmento di tinta variabile e i residui dei sepimenti formati da

grandi cellule irregolari a pareti un po' ispessite, ondulate e persino sinuose.

Nell'esame microscopico della conserva di pomodoro è essenzialmente necessario dimostrare la presenza del mesocarpo, e siccome le pareti cellulari possono essere distrutte o rotte, la dimostrazione del medesimo è legata alla presenza del pigmento e dell'amido che in esse si conteneva.

Il *pigmento* si presenta sotto tre forme: di piccole lamelle poligonali, di bastoncini sottili, di aghi terminanti con una estremità aguzza, con l'altra tronca. Questo pigmento non va confuso con quello dell'epicarpo, e, per distinguerlo, basta trattarlo sotto al campo microscopico con una goccia di acido solforico; esso deve passare immediatamente al blu-indigo.

In quanto ai granuli di amido i più debbono essere grandi  $\mu$  6-16, altri appena  $\mu$  2 e altri sino a  $\mu$  35.

I granuli di grandezza media non dovrebbero trovarsi per ogni campo microscopico, all'ingrandimento di 300 *D*, nella conserva normale, in numero maggiore di 2 ad 8.

Di più i granuli grandi debbono essere all'esame polariscopico attivi in campo oscuro e presentare una nitida croce nera incastrata in una croce chiara assai più ampia di sostanza attiva alla luce polarizzata; i granuli piccoli, sono invece brillanti in totalità in campo nero.

La conserva di pomodoro è stata trovata adulterata con l'aggiunta di polpa di zucca o di carota, coi frutti della rosa selvatica, nonchè con amidi di diversi cereali o di fecole.

La *polpa di zucca* (fig. 62 *a*) si riconosce per la presenza di

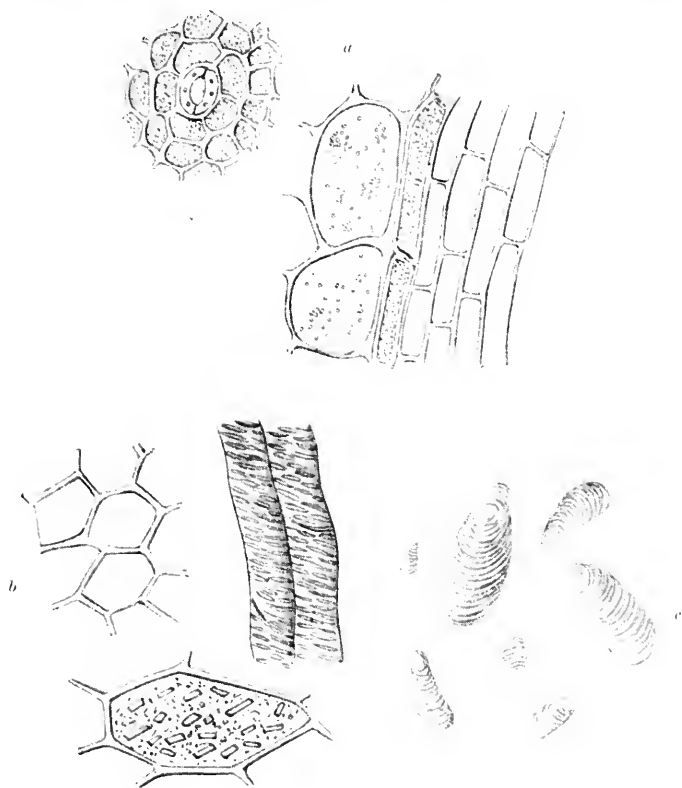


fig. 62.

grandi e numerosi fasci fibrovascolari; le trachee sono grandi, accompagnate quasi sempre da vasi raggiati nonchè da cellule spe-

ciali allungate tubulari, che sembrano dei vasi laticiferi. Se vi sono elementi dell'epicarpo, sono rappresentati da cellule di forma variabile a cuticola spessa, liscia e fra di essi si notano degli stomi.

La *polpa di carota* (fig. 62-*b*) ha qui caratteri molto più netti di quando si osserva nella polvere di caffè dove si trova polverizzata e secca.

Fanno parte della polpa della carota cellule epidermiche allungate a pareti sottilissime; delle cellule irregolarmente poligonali contenenti materia colorante cristallizzata o no in modo caratteristico e disposta molto diversamente da quella del pomodoro; di grandi elementi, tracheali; di fasci fibrovaseolari in genere dritti con punteggiature e raggi particolari.

I *frutti della rosa se'rativa* (camina) impartiscono alla conserva un sapore ed un colorito, che non si allontana gran che da quello del pomodoro. Tale adulterazione è stata scoperta di recente (Bal-doni) e, a parte i particolari microscopici degli elementi di questo frutto, la sua presenza si riconosce perchè il contenuto di alcune cellule (quelle immediatamente sottostanti allo strato epidermoidale) in presenza di qualche goccia di percloruro di ferro al  $\frac{1}{2}$  " o, assume una colorazione verde-scura dovuta al tannino che contengono; nessun elemento della conserva di pomodoro, dà questa reazione, non contenendo tannino.

L'*amido*, col quale più facilmente si sofisticata la conserva di pomodoro, è quello di grantureo che si riconosce per i suoi caratteri già indicati nell'esame delle farine: si può però trovare anche la *fecola di dioscorea* (fig. 62-*c*) che si riconosce per la presenza di granuli di amido tondeggianti od ovoidali o ellittici o allungati e alquanto incurvati, con una striatura evidentissima, un ilo eccentrico o puntiforme o crociato o stellato o a fessura, grandi  $\mu$  30-80-100, attivi alla luce polarizzata, ecc.

## ESAME MICROSCOPICO DEL VINO, DELL'ACETO, DELLA BIRRA.

### Vino.

L'esame microscopico del vino può dirsi tale nello stretto senso della parola soltanto finchè serve allo studio dei depositi del vino e in parte per quello delle malattie del vino stesso.



1. ESAME PER RICONOSCERE LA NATURA DEL DEPOSITO. — In base al reperto dell'esame microscopico del sedimento del vino, distinguonsi quattro sorta di depositi: l'uno formato da cristalli, l'altro da polveri, il terzo da sostanze coloranti, il quarto da microrganismi.

I *cristalli* che possono trovarsi nel vino sono di due sorta: cristalli di bitartrato potassico che si posano nei punti più declivi dei vasi in ammassi per lo più raggiati e bene spesso fioccosi; cristalli di tartrato neutro di calcio, rappresentati da grandi prismi sovente a facce emiedriche, i quali in parte formano la così detta camicia che riveste le pareti delle bottiglie.

Le *sostanze polverose* sono dovute generalmente a terra, che viene portata insieme all'uva e che si riconosce per i suoi granuli amorfi irregolari che si depositano rapidamente al fondo del recipiente e la cui presenza si sospetta sin da principio per il così detto odore di terra che ha il vino.

Il *deposito dei microrganismi* è raro: però si può trovare qualche cellula blastomicetica e qualche germe proveniente dall'uva. Se abbondano i *saccaromiceti*, il vino ha un sapore frizzante ed è in parte guasto. Se abbonda il *dematium pullulans* (che ha tutti i caratteri di un oidio) il vino ha odore sgradevole; se evvi la *botritis cinerea*, od esso proviene da uve che siano state attaccate dalla stessa (uve marcite) il vino è liquoroso e torbido, imbrunito o decolorato.

2. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE SE IL VINO SIA ALTERATO DA MICRORGANISMI. — Il vino può essere soggetto a malattie dovute a microrganismi che in esso si sviluppano. Queste malattie sono: la *fioretta*, l'*acescenza*, l'*incerconimento*, l'*agrodolce*, la *riscosità*, l'*amarore*.

La diagnosi di queste malattie si fonda sui seguenti dati:

*Fioretta*. — Presenza di una pellicola bianca, polverulenta, facilmente disgregabile sulla superficie del vino, formata da cellule ovoidali più o meno allungate, gemmanti, rappresentate dal *saccaromyces mycoderma* o *mycoderma vini*. Questo si sviluppa nei vini contenenti non più del 12-13 % di alcool e sviluppandosi trasforma l'alcool in acido carbonico ed acqua. Non va confuso con i *micoderma acetii* che sono batterii i quali si sviluppano quando la quantità di alcool è diminuita sino a raggiungere il 10 % e sono causa dell'acescenza.

*Acescenza*. — Presenza di una pellicola biancosporea, membranosa, non trasparente e non disgregabile sulla superficie del

vino, costituita di forme bacillari spesso gonfiate nel mezzo, riunite a due, a catena, a filamenti e rappresentati dal *mycoderma aceti* ossia dai batteri dell'aceto. Di questi oggidì se ne conoscono diversi, di cui non tutti però ossidano l'alcool per produrre acido acetico. I due principali sono il *b. aceticum* e il *b. pastorianum* dei quali il primo predominerebbe nel vino malato, e sarebbe differenziabile dal secondo (!) perchè con la tintura di iodio rimane incolore, mentre il *b. pastoriano* si colora in giallo.

*Incerconimento.* — Presenza di una colorazione violacea o bluastro del vino, perdita della limpidezza, intorbidamento, produzione di una spuma molto persistente, dovuta al grande sviluppo di acido carbonico. Questa malattia per cui il vino si dice *girato* è provocata da bacilli che al microscopio appaiono dritti, sottili, a estremi arrotondati, isolati o riuniti, piegati ad angolo o a ginocchio. Secondo Kramer si tratterebbe di un gruppo di bacilli (*b. saprogenes vini I-VII*) e di cocchi (*m. saprogenes vini I-II*) che produrrebbero, a spese delle sostanze azotate ed albumoidi e poi dell'acido tartarico, una speciale putrefazione (la così detta fermentazione tartarica cui sono predisposti i vini che provengono da uve peronosporate e ammuffite).

*Agrodolee.* — Presenza di un sapore dolciastro e intorbidamento del vino dovuti alla *fermentazione mannitica*, che è opera di batteri assumenti la disposizione a catena (streptobatteri) e che sono circondati da una sostanza mucilaginosa (!) che li collega insieme: basta però trattarli con liquido di Lugol perchè le catene si scindano. Essi somigliano ai diplococchi dell'aceto sebbene siano alquanto più grandi: le estremità sono arrotondate e nel mezzo presentano talora una leggera strozzatura che tende a far assumere ad essi la forma di bozzolo (Peglion). Questo germe può vivere tanto nella massa del liquido, quanto alla sua superficie ove forma un velo semitrasparente, bianco, con riflessi sericei.

*Viscosità o grassume.* — Trasformazione del vino in un liquido vischioso, come grasso od olio. In esso si nota la presenza del *b. viscosus vini* di Kramer.

*Amarore.* — Trasformazione del sapore del vino in amaro piccante e presenza di bacilli lunghi immobili, isolati o riuniti a filamenti più o meno intrecciati sui quali si depono la sostanza colorante, ossia di un germe che a mio vedere probabilmente non è che una *streptothrix*.

## Aceto.

L'esame microscopico dell'aceto si conduce come quello del vino, per riconoscere la natura del deposito che in esso si trova e per vedere se è affetto da malattie.

Va soltanto notato che nell'aceto il deposito è quasi tutto rappresentato da microrganismi e costituisce il così detto *deposito poltacco*, nel quale si trovano in grande copia i cadaveri dei batteri dell'aceto. Le forme batteriche viventi riunite a zooglee si trovano piuttosto verso la superficie.

Inoltre nell'aceto mal conservato e nel quale la quantità dell'acido acetico è inferiore al 4 % si può trovare un nematode, la così detta *Anguillula aceti*, visibile anche a occhio nudo, guizzante sulla superficie del liquido, quando, però, non si tratti di aceto molto vecchio.

## Birra.

Anche l'esame microscopico della birra può dirsi un esame microscopico nello stretto senso della parola, solo finchè serve allo studio dei depositi della birra: lo è in parte invece, quando serve allo studio delle malattie microbiche della birra stessa.

1. ESAME PER RICONOSCERE LA NATURA DEL DEPOSITO. — Nella birra, lasciata depositare, si possono trovare, al fondo del recipiente, gli elementi dei materiali che sono stati adoperati per fabbricarla: quindi *granuli di amido* più o meno alterati e *residui dei semi dei cereali*, i quali si riconoscono dai caratteri già indicati nell'esame delle farine. Bisogna però ricordare che oltre a questi si possono trovare anche quelli appartenenti al *luppolo*, cioè piccole ghiandole lucenti e traslucide che si distaccano dai coni di luppolo, e che costituiscono quella polvere gialla che va in commercio col nome di lupolino.

I *depositi di microrganismi* sono rari: si può rinvenire qualche cellula di *saccaromices cerevisiae*: in genere se queste abbondano, la birra è alterata.

2. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE SE LA BIRRA SIA ALTERATA DA MICRORGANISMI CAPACI DI DETERMINARVI MALATTIE. — Come il vino, la birra è soggetta alla malattia dell'*acescenza*, della *fermentazione lattica*, della *riscosità*, della *fermentazione*

*putrida*, dell'*agro-dolce*, ecc., e si riconoscono come causa di queste alterazioni dei batteri, i quali, come quelli del vino, si pretende (!) diagnosticare il più delle volte, per mezzo del semplice esame microscopico.

Però, a differenza del vino, la birra può essere alterata anche per opera di blastomiceti speciali, oltre che dal *sacc. mycoderma* causa della fioretta. Così il *sacc. criguus*, caratteristico per le sue cellule piccole ovalari, dà alla birra una tinta opalina, verdastra e un gusto viscoso, la così detta *malattia verde*; il *sacc. pastoriano I e III* di Hansen, caratteristici per le lunghe cellule a bodino e quelle ovoidali allungate, rendono la birra torbida e amara, ecc., ecc.

## ESAME MICROSCOPICO DELL'ACQUA, DELL'ARIA, DEL SUOLO.

### Acqua.

Al giorno d'oggi si dà poca importanza all'esame microscopico di un'acqua, perchè l'esame chimico e l'esame batteriologico sono quelli che maggiormente attirano l'attenzione. Non v'ha dubbio, ad ogni modo, che esso specificando in molti casi la qualità delle sostanze organiche, le quali si trovano in un'acqua, può rilevare inquinamenti che nè l'esame chimico, nè l'esame batteriologico possono mettere in evidenza.

L'esame microscopico infatti, può darei un criterio importante per giudicare della potabilità di un'acqua, quando ci rivela la presenza di rifiuti animali ovvero la flora e la fauna microscopiche che sono proprie di acque stagnanti o palustri.

Non possiamo però nascondere, che perchè ciò avvenga, occorre che l'esame microscopico sia ben condotto, cosa non facile a farsi presupponendo delle cognizioni un po' estese (le quali non sono sempre acquistabili dai non specialisti) nel campo degli esseri infimi del regno animale e vegetale. V'ha di più: non si ha oggidì ancora una traccia per ben condurre un esame microscopico, perchè nei trattati se ne parla o troppo superficialmente, o niente altro che per far un elenco di tutti i vegetali e animali inferiori che si conoscono dai botanici e dai zoologi.

#### 1. *Tecnica da seguirsi per fare l'esame microscopico di un'acqua.*

Per procedere allo esame microscopico di un'acqua si raccoglie il campione, con le stesse precauzioni colle quali si raccoglie per lo esame batteriologico (V. Batteriologia) prelevando una quantità di acqua relativamente abbondante; cioè 2-10 litri.

In genere, si lascia depositare l'acqua o entro un bicchiere a calice per 2-3 giorni, oppure entro recipienti appositi cilindrici, terminanti in fondo con tubulatura conica nella quale si applica a smeriglio un cappuccetto di vetro cavo, ove si raccoglie il sedimento, od anche cilindri, entro i quali si introduce una bacchetta di vetro che porta in fondo un disco concavo in alto, nel quale si raccoglie il sedimento, man mano che l'acqua esce a gocce da un rubinetto posto in fondo all'apparecchio.

Però alcuni preferiscono filtrare l'acqua addirittura in sito, anche attraverso fogli di carta bibula, e raccogliere le ultime quantità che rimangono sul filtro. In quest'ultimo caso, si comprende che si può utilizzare nella filtrazione una quantità di acqua rilevante.

Si può anche raccogliere il sedimento dell'acqua, servendosi del metodo seguito dal Sedgwick. Questi filtra l'acqua attraverso un filtro di sabbia calcinata, separa il deposito organico dalla sabbia, disgregando questa in una quantità di acqua distillata 50 volte più piccola e decantando rapidamente il liquido. In quest'ultimo si trova il deposito, che viene esaminato al microscopio. L'enumerazione dei residui si fa poi servendosi di apposito apparecchio simile a quello di Malassez-Hayem, sul quale non è qui il caso di entrare.

Però, col metodo del Sedgwick, molto materiale va a fondo con la sabbia durante la decantazione e l'esame può dare risultati incompleti. Ad evitare in parte questo inconveniente, io mi servo di un filtro Maassen largo (fig. 63-a) a fondo piatto, di porcellana porosa, e aiuto la filtrazione mediante l'aspirazione. Raccolgo, entro provette, gli ultimi 50 cmc. che rimangono sul filtro, avendo cura, prima di raccogliergli, di spazzolare il fondo del filtro, con apposito spazzolino sterilizzato e centrifugo. Decanto il liquido ed esamo il deposito dei tubi.

All'opio ho costruito l'apparecchio (fig. 64-2.) seguente: esso consta di un cilindro metallico stagnato *A* della capacità di  $\frac{1}{2}$ -1 litro fornito di un livello (*a*) e nel fondo di un rubinetto (*b*). Nella parte superiore è aperto e porta ai bordi un disco piatto (*c*). Nell'interno, appena al di sotto del disco, evvi un anello metallico, sul quale si adatta il bordo della candela Maassen *C* a mezzo di un disco di gomma. Lateralmente al disotto del disco evvi un rubinetto che si pone in comunicazione colla pompa aspirante fig. 64-1).

Sul disco si colloca, coll'intermezzo di un largo anello di gomma, un tubo di metallo *B* fornito a sua volta di un altro disco metallico (*e*) al bordo. Questo tubo *B* è svasato in alto a imbuto. ha la capacità di  $\frac{1}{2}$ -1 litro ed ha un diametro più stretto di quello del recipiente inferiore, e ciò perchè possa far pressione anche sui bordi della candela.

Si stringono i due dischi per mezzo di morse (1-2) applicate al disco (*e*) del recipiente *A*. I pezzi *A* e *B* si sterilizzano divisi nella stufa a 100°, si riuniscono quindi compresa la candela (che frattanto è stata sterilizzata a secco) e si sterilizza ancora una volta nella stufa a 100°.

L'acqua da esaminare si versa nel recipiente superiore *B*: essa per mezzo della aspirazione fatta nel recipiente *A* passa in quest'ultimo attraverso la candela porosa, lasciando su questa depositati i materiali corpuscolari.

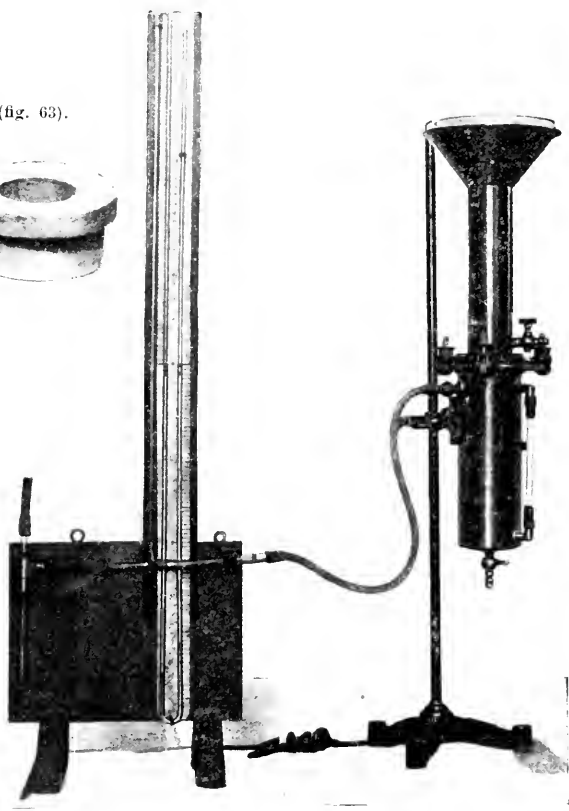
Man mano che passa se ne può aggiungere de la nuova, avendo però cura, osservando il livello (*a*), di svotare ogni tanto il recipiente *A*. Ciò si fa aprendo il rubinetto in comunicazione con la pompa *z* dopo il distacco del tubo da quest'ultima, e poi aprendo il rubinetto (*b*).

L'esame del sedimento, comunque ottenuto, si opera facendo dei preparati a fresco o a goccia pendente. È inutile o quasi pro-

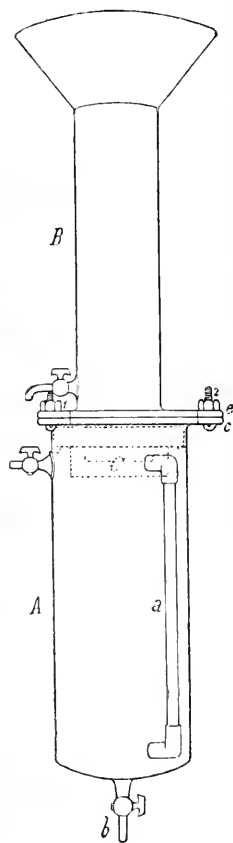
cedere a colorazioni, come si faceva una volta, perchè esse non servono che a svelare i batteri che si ricercano meglio coll'esame batteriologico.

Per i preparati a fresco, basta coprire la goccia posta sul portaoggetti con un vetrino copri-oggetti e circondare il vetrino con

(fig. 63).

 $\alpha$ 

(fig. 64).

 $\beta$ 

paraffina per evitare che l'acqua evapori durante l'osservazione microscopica.

Per i preparati a goccia pendente occorre fare delle goccioline piccole per potere all'occorrenza servirsi anche di forti lenti a secco, a corta distanza focale. È consigliabile ad ogni modo di servirsi delle cellette di Ranvier, le quali tolgono l'inconveniente

della gocciola molto spessa, disponendosi il materiale costantemente in un sottile strato (V. Batteriologia parte generale).

2. *Reperto microscopico dell'acqua.* — Costituiscono il reperto microscopico di un'acqua residui minerali, residui organici, esseri viventi.

*I residui minerali* sono rappresentati da granuli o di forma irregolare, inattaccabili dalla maggior parte dei reagenti chimici (argille, quarzo) o di forma cristallina (carbonato o solfato di magnesio e di calcio, cloruro sodico, nitrato potassico, ecc.). Il trovare questi residui ha però poca o niuna importanza nello esame di un'acqua, poichè è coll'esame chimico che si procede allo studio dei suoi componenti minerali.

*I residui organici* che possono trovarsi nell'acqua di pozzo o di cisterna o anche superficiale sono numerosi, e la loro ricerca è importante, sia perchè specificandone la presenza si può dar maggior valore all'analisi chimica qualitativa delle sostanze organiche di un'acqua, sia perchè stanno ad indicare che l'acqua non è difesa dagli inquinamenti, o che con essa ha contatto la falda liquida superficiale, o che addirittura viene in contatto con lo esterno.

Questi residui possono distinguersi in:

*a)* corpi di origine animale (sedimenti dell'urina, peli, piume, frammenti di fibre muscolari, gocciole di grasso, ecc.);

*b)* corpi di origine vegetale (amido, granuli di polline, trachee, fibre tessili, ecc.).

*Gli esseri viventi* che possono trovarsi nell'acqua, e per la cui ricerca è necessario il microscopio, sono numerosissimi e appartenenti al regno animale e al vegetale. Non tutti però debbono essere oggetto di ricerche speciali, ma soltanto quelli che hanno più diretto rapporto con l'uomo, rimanendo gli altri oggetto di ricerche d'ordine più generale.

Riguardo agli esseri appartenenti al regno animale: non è necessario procedere alla diagnosi del genere o della specie delle forme di *Arthropodi* che si possono rinvenire, ma basta indicare la presenza di forme del gruppo; invece è necessario procedere a ricerche più minute sia per i *Vermi*, perchè nell'acqua possono trovarsi o le uova o le larve di quelli che vivono parassiti nell'uomo, sia per i *Protozoi* potendosi trovare nell'acqua le forme cistiche dei parassiti dell'uomo per la cui diagnosi è necessario procedere con grande rigore.

Così riguardo agli esseri appartenenti al regno vegetale, a parte gli ifomiceti e i blastomiceti che a nostro avviso debbono

rientrare nello esame batteriologico, si deve porre attenzione alle *alghe*, senza che per altro sia strettamente necessario diffondersi in ricerche speciali sulle medesime. È però assai importante ricercare e diagnosticare quelle forme filamentose che fino a poco tempo fa si sono collocate nel gruppo dei « Fädenbakterien » come le *crenothrix*.

Ciò premesso, gli esseri viventi che o debbono maggiormente essere ricercati nelle acque o che più frequentemente possono trovarsi sono i seguenti:

### Vermi.

Vi si trovano nova, larve, vermi nello stadio adulto.

Le uova possono essere di:

a) *Trematodi* cui appartengono il *distoma epatico*, il *lanco-lato*, la *bilharzia haematobia*, ecc.;

b) *Cestodi* cui appartengono le *tenie*: *solium*, *saginata*, *echinococcus*, *euumerina*, *nana*, *leptocephala*, ecc.;

c) *Nematodi* cui appartengono il *tricocephalus dispar* tra i *Tricotrachelidi*: *Eustrongylus gigas*, lo *strongylus longecarinatus*, l'*anchylostoma duodenale* tra gli *Strongilidi*: *Ascaris lumbricoides*, il *miris*, ecc. tra gli *Ascaridi*: *Oxyuris vermicularis* tra gli *Ossuridi*, ecc.;

d) *Acanthocefali* cui appartengono gli *echinorhynchus gigas*, *moniliformis*, ecc.

Esse si riconoscono dai seguenti caratteri che per maggior chiarezza riunisco nella seguente tavola:



CARATTERI DELLE UOVA DEI VERMI CHE SI TROVANO NELLE ACQUE.

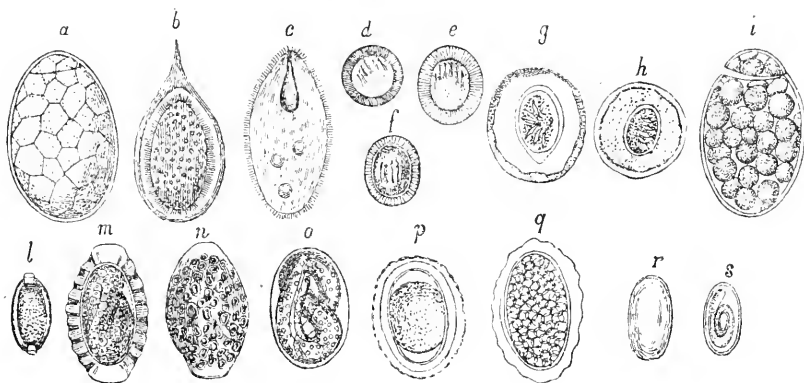


fig. 65.

TAB. 14.

Vermi	Grandezza delle uova in $\mu$	Forma delle uova	Caratteri del guscio	Contenuto delle uova
<i>Distomum hepaticum</i> <i>Retzius</i> . Fig. 65-a.	435-445 $\times$ 70-90	Ovoidale piú stretta a un polo.	Sottile, liscio, con un opercolo al polo piú stretto, di colorito bruno-giallastro.	Cellule addossate le une alle altre riempienti tutto l'uovo in modo da assumere una forma poliedrica.
<i>Distomum lanceolatum</i> <i>Mehlis</i> .	38-43 $\times$ 20-30	Ovoidale a poli smussi.	Sottile, liscio, con un opercolo a un polo e un ispessimento a forma di bottone all'altro, di colorito nerastro.	
<i>Bilharzia haematobia</i> <i>Cobbold</i> . Fig. 65-b, c.	435-460 $\times$ 55-66	Ovale con un polo fornito di una spina o sperone lungo 20 $\mu$ .		
<i>Taenia solium</i> <i>Rudolphi</i> . Fig. 65-d.	34-36	Quasi sferica.	Spesso con striatura raggiata grossolana, giallastro.	Embrione con 6 uncini (larva esacantata).
<i>T. Saginata</i> <i>Göze</i> Fig. 65-e.	30-40 $\times$ 20-33	Ovale.	Item piú fina (?), giallastro.	Item senza uncini.
<i>T. echinococcus</i> <i>von Siebold</i> . Fig. 65-f.	32-36 $\times$ 25-30	Leggermente ovale.	Poco spesso, giallastro, striato.	Embrione con uncini.
<i>T. cucumerina</i> . <i>Bloch</i> .	43-50	Ovale.	Sottile, chitinoso.	Item grande 32-36 $\mu$ .

<i>T. nana</i> von Siebold. Fig. 65-g, h.	30-55	Ovale o ellittica.	Costituito da tre strati anisti, trasparenti.	Idem grande 16-19 $\mu$ .
<i>Bobriocephalus laevis</i> Bremser. Fig. 65-i.	68-74 $\times$ 44-45	Ovale o ellittica	Sottile con un opercolo a un polo, brunostrato.	Segmentato.
<i>Trichocephalus dispar</i> Rudolphi. Fig. 65-l.	54-53 $\times$ 21-23	Ellittica.	Spesso con due prominente ai poli, giallobruno.	Embrione.
<i>Eustrongylus gigas</i> Diestig. Fig. 65-m, n.	64-68 $\times$ 40-44	Ellissoide un po' assottigliata ai poli.	Membrana esterna liscia ai due poli e lucavata da numerosi infossamenti nel resto, brunostrata, meno ai due poli ove è incolore; membrana interna liscia.	Segmentato appena espulso: contenente l'embrione grande 210 $\times$ 44 $\mu$ più tardi.
<i>Anchylostoma duodenale</i> Dubini. Fig. 65-o.	51-55 $\times$ 32-43	Ellittica.	Sottile a contorno liscio e regolare, non colorato.	Granuloso appena eliminato, nell'acqua si può trovare però coll'embrione.
<i>Ascaris lumbricoides</i> L. <i>nova</i> fecundate. Fig. 65-p.	50-75 $\times$ 40-58	Ovoidale o sferica.	Involucro esterno (membrana albuminosa) ben accollata giallastra. Involucro interno sottile a doppio contorno, regolare.	Gocciolate gialle splendenti riempienti tutto l'uovo.
<i>Ascaris lumbricoides</i> L. <i>nova</i> non fecundate (Barbagallo). Fig. 65-q.	52 $\times$ 62	Ovoidale molto allungata: raramente sferica.	Involucro esterno meno spesso e sovente mancante. Involucro interno più spesso del corrispondente delle fecondate.	Embrione ghirniforme.
<i>Oxyuris vermicularis</i> Bremser. Fig. 65-r, s.	50-54 $\times$ 16-27	Ovale con una faccia appiattita e una curva.	Sottile, liscio.	

Le larve (fig. 66) che possono trovarsi nell'acqua sono:

a) I miracidii o embrioni cigliati del *distoma opatico* (fig. 66-a.) e del *distoma lanceolato* (fig. 66-b), i quali si distinguono tra di loro, perchè il primo ha la forma di cono tronco e presenta all'estremità anteriore, la quale è la più larga, una piccola prominenza e dietro ad essa sulla faccia dorsale una macchia

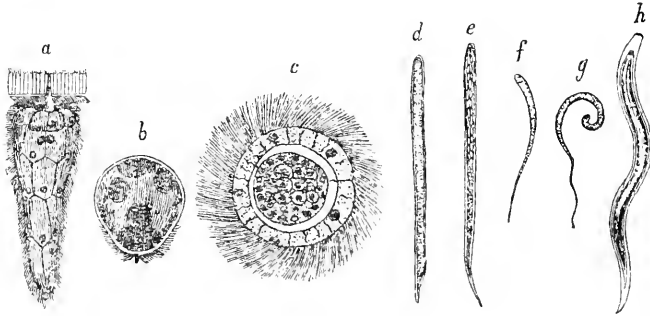


fig. 66

pigmentata a forma di *N*, ed è tutta ricoperta di ciglia vibratili, mentre il secondo ha forma sferica o piriforme ed è provvisto di ciglia solo nella parte anteriore del corpo, nella quale esiste pure un pungiglione retrattile.

b) L'embrione del *bohrioccephalus latus* (fig. 66-c), che è rappresentato da un piccolo animale sferico grande  $\mu$  45-50, con l'ectoderma spesso  $\mu$  10, ricoperto di ciglia vibratili lunghe e numerose e ha l'interno occupato da una massa cellulare rotondeggiante, alla cui superficie si distinguono tre paia d'uncini.

c) Le larve di *anguillula intestinalis* (fig. 66-d), che vengono espulse con le feci. Esse hanno una lunghezza di mm. 0,45-0,60 e una larghezza di  $\mu$  16-20, sono simili a quelle dell'*Anchylostoma*, ma sono più grandi e in date condizioni possono apparire come avvolte da una cisti, perchè hanno subito una muta senza lasciare il vecchio tegumento.

d) Le *anguillule stercorali* (fig. 66-e), (ossia le figlie delle larve dell'*anguillula intestinalis*, le quali larve, come si sa, divenendo mature si distinguono in maschi e femmine, si accoppiano e producono figli) grandi dapprima 30-40  $\mu$  poi sino a 0,55 mm. con caratteri che le fanno somigliare alle forme delle *anguillule* intestinali parassite, cioè con una coda accorciata con due rialzi laterali, ecc.

e) Le larve delle *filarie* (fig. 66: *f, g*), di cui quella della *filaria medinensis* che è lunga  $\mu$  500-700  $\times$  15-25 ha forma cilindrica terminante con lunga coda, e quella della *filaria bancrofti* è grande mm. 1,50  $\times$  0,25, mobilissima, fornita di papille nell'estremità caudale, di un tubo digerente, ecc., e viene a liberarsi dal corpo delle zanzare che hanno succhiato il sangue dei filariosi, dopo che le zanzare sono morte e cadute nell'acqua e il loro corpo si è decomposto.

f) Le larve di *anchylostoma duodenale* (fig. 66 *h*), che sono grandi  $\mu$  560  $\times$  24 con estremità caudale affilata, ecc., e rivestite da una specie di guscio dapprima flessibile, poi inerostato di sali calcarei, (dovuto al fatto che esse subiscono varie mute senza che i tegumenti dell'involucro embrionale vengano abbandonati), ciò che permette loro di vivere nell'acqua.

I vermi adulti, che possono trovarsi nell'acqua, non hanno stretto rapporto con l'Uomo: sono i *Gordii*, di cui possono però trovarsi anche le larve: i *Rotiferi* i quali spesso sono stati confusi con gli Infusorii e che si distinguono per avere il corpo esteriormente segmentato senza che ad ogni divisione corrispondano degli organi interni, per avere l'estremità anteriore munita di un apparecchio ciliare spesso retrattile: un esempio si ha nel comune *rotifer vulgaris*, ecc.

### Protozoi.

I Protozoi, che si possono trovare nelle acque, sono numerosissimi. Però fra di essi le forme che sono importanti, per essere parassite dell'uomo sono poche, e per queste va in ogni caso tenuto presente che nell'ambiente e quindi nell'acqua è dubbio se alcuna se ne trovi nello stadio di vita libera (come viene invece comunemente eredito e riferito nei trattati). Ne consegue che le forme protozoiche, conducenti vita libera nell'acqua, non possono avere per noi che un'interesse biologico generale.

I Protozoi che si trovano in vita libera nell'acqua sono specialmente rappresentati da esseri appartenenti alle classi dei *Rizopodi*, *Mastigofori*, *Cigliati*, *Suctorii* (v. Protozoologia, parte speciale).

Tra i rappresentanti della classe dei *Rizopodi* si trovano:

a) le *Amoebae* (forme a protoplasma nudo dotate della proprietà di emettere pseudopodi e ritirarli, ecc.);

b) le *Arcellae* (forme a protoplasma esternamente indurito a guisa di guscio, ecc.);

c) le *Difflugiae* (forme in cui per la cementazione di corpuscoli estranei come granuli di sabbia, scheletri di diatomee, ecc., si ha la formazione di

una corazza che a volte ha forma di un uovo e che presenta un'apertura per la fuoriuscita dei pseudopodi, ecc.);

d) i rappresentanti del gruppo degli *Heliozoï* che sono forme nude o con guscio, per lo più di forma sferica, emettenti pseudopodi filiformi da ogni punto della superficie del corpo per cui si dicono anche *animaletti da sole* come, ad esempio l'*actinophris eichhornii*, ecc.

Tra i *Mastigofori* si trovano i rappresentanti dei due gruppi degli *Eri-flagellata* e dei *Dinoflagellata*, cioè:

a) il *cercomonas* o *dimorpha longicauda* tra i *Dimorpha*;

b) la *monas guttula* tra i *Monas*, caratteristiche forme nude ovali, rotonde o fusiformi, che al punto del flagello principale portano per lo più un'apertura boccale, dietro cui stanno vescichette e nuclei;

c) le *euglene*, caratteristiche per il loro corpo fusiforme che ricorda la forma di un pesce;

d) la *dendromonas virgaria* tra le *Dendromonas*, caratteristiche colonie di animaletti riuniti insieme sopra un gambo che si ramifica;

e) le *volvox*, caratteristiche colonie di animaletti tenuti assieme da un involucre gelatinoso, come, per esempio, la *pandorina morum*.

Tra i *Cigliati* si notano tutti i rappresentanti dei vari gruppi degli:

a) *Holotrica*, come la *phialina vermicularis*, il *dileptus margaritifer*, il *paramoecium bursaria*, caratteristici per avere il corpo coperto di fine ciglia, le quali possono ritenersi indifferenziate anche in vicinanza del cistostoma;

b) *Heterotrica*, come lo *stentor polymorphus*, caratteristici per avere il corpo ricoperto tutto di ciglia, le quali in corrispondenza del peristoma sono lunghe e disposte in vari sensi (obliquo, a spirale, ecc.);

c) *Hypotrica* come la *stylonichia pustulata*, caratteristici per la loro forma bilaterale e per possedere le ciglia solo alla faccia ventrale;

d) *Peritrica* come le *rotlicelle*, caratteristiche per la loro forma sferica o cilindrica nuda o eccezionalmente con un incompleto rivestimento di ciglia e in generale con una serie periviale di ciglia lunghe.

Anche dei *Suctori* si trovano alcuni rappresentanti: la loro caratteristica è che nello stadio adulto non possiedono ciglia nè altri organi di movimento (V. Protozoologia, parte generale).

*I Protozoi che non si trovano in vita libera nelle acque, ma che si possono trovare nella fase cistica provenienti dalle feci dell'uomo, sono: l'Entamoeba hominis (Amoeba coli); il Megastoma entericum s. Lamblia intestinalis; il Balantidium s. Paramoecium coli, per la descrizione delle quali, rimando alla Protozoologia, parte speciale.*

Si dovrebbero poter trovare anche le cisti del *Trichomonas hominis*: ma, non è ancora ben stabilito se quelle descritte per tali, appartengano a questo parassita e siano delle vere cisti.

### Alge.

Le alghe che si possono trovare nell'acqua sono moltissime e appartengono alle più diverse famiglie. Si rinvengono infatti rappresentanti:

1. delle *chroococceae* come il *chroococcus turgidus*, rappresentato da cellule a contenuto verde-azzurro, circondate da una membrana spessa, incolore; la *policistis marginata*, caratteristica per il suo involucro gelatinoso incolore, disposto in diversi strati concentrici, ecc.

2. delle *nostococceae* come i *nostoc*, rappresentati da masse gelatinose in cui stanno filari di cellule sferiche, olivastre, ecc.; le *oscillariaceae* rappresentate da cellule riunite assieme coi setti divisorii non bene visibili, contenenti un protoplasma granuloso, caratteristiche perchè le estremità oscillano lentamente a destra e a sinistra e viceversa, ecc.

3. delle *palmellaceae* come il *pleurococcus angulosus*, rappresentato da cellule grandi 7-12  $\mu$  a contenuto verde, isolate o riunite in piccoli gruppi da una membrana spessa, come i *protococchi*, col le loro cellule di diversa grandezza, fra cui il *P. infusionum*, che è il più grande, è formato da cellule di 15-45  $\mu$ , di colorito verde, con una membrana a sottili strati, spessa e o liberamente nuotante o immobile e in questo caso in piani spesso numerosissimi.

4. delle *confervaceae*, come la *cladophora glomerata*, alga filamentosa i cui filamenti contengono corpicciuoli verdastri poligonali (cloroplastidii) giustapposti, fra i quali si trovano poi altri corpi di diversa natura: i singoli filamenti sono costituiti da cellule spesse 30-50  $\mu$  e 2-6 volte più larghe che lunghe.

5. delle *zizmenaceae* come il *zizmena pectinatum*, alga filamentosa a filamenti o isolati verdi o giallo-verdastri, costituiti da cellule spesse 18-50  $\mu$ , od avvicinati e in contatto per la pressione di due cellule; le *spirogire* o *coniugate*, le quali, come le precedenti, sono delle alghe filamentose riconoscibili perchè entro ai singoli elementi cellulari si contiene un protoplasma incolore e dei grandi corpi clorofillacei verdi disposti a spirale.

6. delle *diatomee* o alghe a guscio siliceo fra cui alcune delle *naviculaceae* come la *navicularia viridis*; alcune delle *scalprae* come lo *scalprum attenuatum* (*pleurosigma* att.); alcune delle *meridieae* come il *meridion circolare*, ecc., e così via dicendo i rappresentanti di altre famiglie sui quali non insisto.

### Batteri filamentosi.

Nei trattati in genere si parla di *crenothrix*, di *cladothrix*, di *leptothrix*, come di forme microscopicamente distinte e separate; però basta leggerne le descrizioni per comprendere quanto i loro caratteri siano indecisi, e come sia difficile differenziarle tra di loro. Si tratterebbe « di esseri (Gasperini) che descritti ora come alghe indifferenti di acque termali, ora come bacilli fila-

mentosi, si prestavano a ricevere appellativi generici e specifici vari » ma che in fondo potevano benissimo riamodarsi al gruppo delle *Begiatoc*.

In massima si tratta « di germi a filamenti dritti o variamente incurvati, privi di regola di ramificazione, continui e a volte articolati, a estremità ricurve, dotati di movimenti anguiformi o immobili, forniti di granuli rifrangenti, aventi addossati granulazioni, credute erroneamente di zolfo, moltiplicantesi per scissione, mai per spore, sviluppatissimi specialmente nelle acque termali solforose in fiocchetti che diconsi gleicina o baregina ».

Le forme più importanti le cui descrizioni i trattatisti si tramandano l'uno all'altro, sarebbero: la *crenatrix kuniana* o *polispora*, la *begiatoa alba* e la *cladotrix dichotoma*, la *leptotrix valderia* e *ocracea*.

Stando al Gasperini, a parte le confusioni che sono state fatte descrivendo per *crenatrix*, *begiatoa* etc. le forme e di alghe e di batterii che si trovavano insieme ad essi, facendoli magari passare per stadi di sviluppo dei medesimi, certamente sarebbero *begiatoc*, ad elementi lunghi sottili, indivisi, le forme leptotrine di Valderi, e dovrebbero chiamarsi *begiatoa tenuissima*, come ancora la *thiotrix tenuissima* di Winogradsky.

Sarebbero *begiatoc* ad elementi più grandi, ma con tutti i caratteri delle *begiatoc* vere, la *begiatoa alba*, simile se non la stessa della *crenatrix* che l'A. chiama *begiatoa Kuniana*: così pure sarebbe una *begiatoa* la *begiatoa major* etc.

Alle *Begiatoc*, bisognerebbe ancora riportare quell'alga che l'Eherenberg chiama *galionella ferruginea*, che fu descritta come uno spirocheto, a lunghi filamenti sottili isolati o avvolti tra di loro in diverse fogge. A questo tipo corrisponderebbero stadi anormali di *Crenatrix*, i cui filamenti invecchiando o perdendo la vitalità danno luogo a forme a rovescio e si scindono in nastri sottilissimi, in parte avvolgendosi ad elica, nonchè un'alga che il Pellegrini, avrebbe potuto allevare in laboratorio e che sarebbe una individualità ben distinta, differente dalla *crenatrix*.

Sarebbe solo da discutersi intorno all'esistenza della *cladotrix dichotoma*, la quale così come si descrive generalmente è un'alga, uno streptotrix etc. ed è inidentificabile. Il Gasperini dice: se non sono accaduti equivoci con gli *actinomyces*, con le *leptotrix*, con i *bacillus*, è probabile che per *cladotrix* si sia inteso indicare quelle forme delle alghe che stanno per perdere o che non lasciano più vedere la cloroilla, che sono sottili e con articoli simili a quelli dei bacilli più elevati, che non sono coltivabili nella gelatina, nell'agar e nel brodo, immobili, senza ramificazioni ed aventi una posizione incerta nella sistematica.

Ad ogni modo conviene separare dalle *Begiatoc* in genere e dalle *Crenatrix* in specie quelle forme filamentose che sono state descritte erroneamente *Crenatrix* perchè hanno la proprietà di assorbire il ferro sotto forma di ossidato, ma che sono dei veri ifomiceti. Si differenziano perchè hanno ramificazioni vere, filamenti variamente spessi, a rigonfiamenti bruschi, con tratti nei quali le deposizioni granulari non nascondono la struttura dei fila-



menti e poi per la loro notevole resistenza all'acido ossalico. Il Pellegrini ha infatti dimostrato sperimentalmente che tali proprietà la posseggono il *muco mucedo*, il *penicillum glaucum*, il *thamnidium elegans* e anche delle alghe diverse dalle begiatoe, come la *spirogira elongata*.

Tra tutte le Begiatoe la più importante è quella che a preferenza di altri esseri dà luogo ai molteplici inconvenienti conosciuti sotto il nome di *crenotrix*.

Nelle pareti di questo microrganismo (*beg. kuhniiana* Gasp.) si fissa del ferro sotto forma di ossido ferrico organoide e questo processo di fissazione più che essere legato con la necessità che ha il microrganismo stesso dei sali di ferro per vivere e moltiplicarsi, rappresenta un fenomeno biochimico complesso che finisce con la morte e la disorganizzazione della parte assile o vitale dei filamenti, i quali, a processo inoltrato, vengono solo rappresentati da guaine vuote ed inorganiche, completamente solubili in acido ossalico come in altri solventi dell'ossido ferrico. Per lo sviluppo della *begiatoa kuhniiana* possono venire otturate, però, non solo le condutture di ghisa, ma anche quelle di terra cotta, di piombo o di qualsiasi altro materiale con la differenza, che mentre in quelli di ghisa si ha lo svolgersi di un fenomeno molto complesso che iniziandosi con la produzione di tubercoli ferruginosi, prosegue con la partecipazione ed alterazione delle pareti e può terminare con l'ostruzione quasi completa di lunghi tratti di conduttura, negli altri tubi invece le ostruzioni si trovano dove vengono favorite da condizioni meccaniche e ciò per l'accumulo dei filamenti per l'ammassarsi e il succedersi di numerose generazioni di microrganismi i più diversi, i quali mentre da un lato ostacolano la normale circolazione dell'acqua, dall'altro contribuiscono ad alterarne i caratteri in guisa da ridurla perfino inservibile a qualsiasi uso domestico.

La *Crenotrix* (fig. 67) si riconosce con discreta facilità nelle condutture di ghisa esaminando i tubercoli ferruginosi, dove si può trovare nella sua forma filamentosa fornita di una guaina spessa e rigida o sotto forma di filamenti elicoidali, se il suo sviluppo è da tempo arrestato: però in alcuni casi essa può non esserci più, e allora l'esame del tubercolo rimane negativo, il che però non autorizza a negare che la *crenotrix* vi sia stata. Quando invece si tratti di condutture di altro materiale o di sorgenti, si cercano quei fiocchetti ocracei che stretti fra il pollice e l'indice danno l'impressione di una sostanza untuosa e che contengono una sostanza polverulenta, argillosa e si esaminano al microscopio.

Ecco, ad esempio, un dettagliato reperto, eseguito dal Gasperini, di espugli di *crenotrix*. Egli li trovò costituiti da un gran numero di filamenti di colore ocraceo, intrecciati, incurvati, serpiginosi, lunghissimi, spessi  $\mu$ . 1-7, i più sottili a parete incolore, i più grossi a parete cupa molto rifrangente (a)

sulla parete dei filamenti non c'era vestigio di colore cremeus; e il contenuto non appariva differenziato: erano come tubicini vitrei organoidi, con pareti lisce, regolarmente cilindrici: nei più colorati era bene apprezzabile

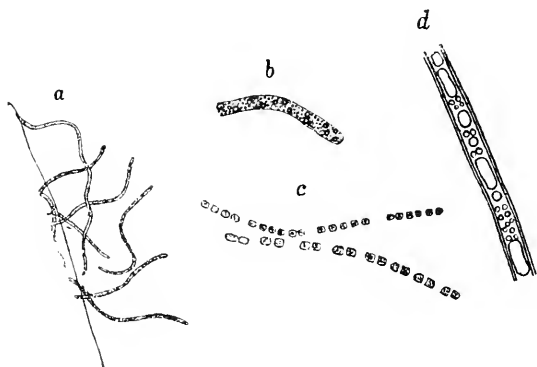


fig. 67.

una linea scura continua ed omogenea verso l'asse dei filamenti: gli estremi erano tronchi, in genere senza ramificazione. Però nella *begiatoa media* notò anche dei filamenti incolori, molto rifrangenti, costituiti da articoli bacilliformi con movimento oscillatorio, dei quali i più sottili presentavano vere e proprie ramificazioni (*begiatoa ramosa?*).

In altri casi trovò delle forme grandi con guaina ferrica spessa (*d*) pseudo-ramificate o con vere ramificazioni, dovute al fatto che i filamenti, trovandosi addossati, venivano saldati assieme dalla guaina ferrica, e così si finiva col produrre fortuitamente una vera ramificazione.

Finalmente egli trovò filamenti lunghi, sottili ( $\mu$  1-1,7), isolati o fra di loro avvolti a spira, più o meno numerosi, cui diede il significato di forme anomale di crenotrix per sfilamento dei filamenti invecchiati o morti.

Colorando i cespugli con i comuni colori di anilina, i filamenti incolori si colorano facilmente e intensamente, quelli organoidi no. Trattandoli coll'iodio questi ultimi mostrano nell'interno come un sottilissimo filamento spezzato in tanti articoli più o meno lunghi i quali occupano regolarmente l'asse della guaina ferrica o vi si dispongono irregolarmente. Trattando poi i cespugli con acido ossalico, scompaiono le guaine ferriche (*b*) e rimangono dei filamenti ialini sottilissimi continui o con linee trasversali più rifrangenti e qualche volta con una serie di punti più rifrangenti disposti a catenella (*c*) ecc.

Le Crenotrix sono incoltivabili: solo il Pellegrini avrebbe ottenuto, per pochi giorni, uno sviluppo della *begiatoa alba* in acqua distillata, addizionata di poche gocce di brodo e di 0,001 a 0,01 % di solfato e cloruro ferroso.

### Aria.

L'esame microscopico dell'aria è oggidì diretto allo scopo di ricercare gli elementi costituenti il pulviscolo atmosferico, indi-

pendentemente dagli organismi viventi, muffe, blastomiceti, batteri che si ricercano coll'esame batteriologico.

Volendo esaminare il pulviscolo atmosferico, generalmente si consiglia di esporre all'aria per un tempo determinato dei vetrini spalmati di glicerina e osservare al microscopio ciò che vi si è depositato sopra. Si può anche facilitare tale ricerca, servendosi di qualcuno dei così detti aeroscopi, per esempio dell'aeroscopio del Pouchet o del Miquel.

Si può però, non possedendo aeroscopi, procedere al lavaggio dell'aria o nell'acqua distillata sterilizzata o nel liquido indifferente proposto dal Sanfelice (glicerina al 5 % in acqua distillata), o nella soluzione fisiologica di cloruro sodico o in questa stessa con aggiunta di acido fenico (1 %). Il lavaggio si compie facendo passare e gorgogliare l'aria a piccole bolle attraverso una o più provette comunicanti fra loro. Il deposito per l'esame microscopico si facilita mediante la centrifugazione.

L'Arens poi ha ideato un soffietto di stoffa impermeabile ai gas, della capacità di 5 l. provvisto all'apertura di un tubo ad Y con rubinetti alle due branche. Si riempie il soffietto, chiudendo uno dei rubinetti situati all'estremo delle due branche del tubo ad Y lasciando aperto l'altro, e lo si svuota procedendo inversamente. Il filtro consta di un tubo lungo 8-10 cm. e del diametro di una provetta e affilato ad una estremità. Viene riempito di un tampone di ovatta del diametro di 3-4 cm. avendo cura di liberarlo dai peli liberi soffiando e di essiccarlo in un essiccatore ad  $H^2 SO^4$ . Con questo apparecchio si possono filtrare fino a 200 l. d'aria in  $\frac{5}{4}$  d'ora.

Senza ricorrere al metodo dell'Arens, che nella pratica è alquanto incomodo, si può anche praticare l'esame microscopico dell'aria per la ricerca delle particelle insolubili facendo passare l'aria attraverso ad un filtro di zucchero come quello da me ideato per l'esame batteriologico (V. Batteriologia, parte speciale) e poi, dopo avere aspirati 20-100 litri, sciogliere lo zucchero in acqua facendolo pervenire in un recipiente contenente acqua distillata sterilizzata, che viene centrifugata per poi esaminarne il residuo.

Perchè i risultati siano esatti è consigliabile che il filtro sia tenuto durante l'aspirazione, verticale, e che con un esame di controllo, si sappia bene se nella soluzione zuccherina semplice si trovino elementi eterogenei e se vi si sono, non si riferiscano poi all'aria.

Quando si voglia tenere conto anche delle particelle solubili, allora si può sostituire il filtro di zucchero con uno di amianto, ed esaminare direttamente al microscopio i primi strati del filtro facendo una serie di preparati per esempio in olio di vaselina, in olio di oliva, o anche addirittura in olio di cedro, o balsamo del Canada o idrato di cloralio, procurando di non mettere sul vetrino portoggetti una grande quantità di materiale.

Qualunque sia la tecnica adoperata, l'esame microscopico dell'aria è assai difficile, perchè la interpretazione di tutte le particelle che si riscontrano (sempre indipendentemente da muffe,

blastomiceti e batteri), è legata a conoscenze individuali che si acquistano solo con una pratica speciale.

Tutti i costituenti del pulviscolo atmosferico si possono raggruppare nelle tre categorie di *polveri organizzate, organiche, inorganiche*.

Fra i corpi organici ed organizzati possono trovarsi delle alghe, dei protozoi incistidati, delle uova di elminti, elementi tutti più o meno coartati, alterati, e diagnosticabili. Fra i corpi organici, si trovano peli, polline, frammenti di corpi organizzati vegetali, ecc., fra i corpi inorganizzati, polveri di pietra, metalliche, di tornitori, di pulitori. In generale si può ritenere che l'esame microscopico dell'aria inteso nel suo vero senso igienico, ha importanza reale solo per stabilire se l'aria delle fabbriche, ove lavorano molti operai, sia o no dannosa per le molte particelle sospese, che vengono respirate, specie poi se si tratta di particelle a bordi acuminati, taglienti, a sega, ad uncino.

Dagli studi sinora fatti gli è certo che le polveri microscopicamente variano secondo i diversi ambienti e le diverse fabbriche, come si può rilevare dal lavoro dell'Arens e del Périsse, i quali hanno dato anche le figure microscopiche delle varie polveri minerali ed organiche che si possono rinvenire nei diversi ambienti industriali.

Le più pericolose sono le metalliche, specie quelle che derivano dalla tornitura degli aghi di acciaio, poichè esse sono taglientissime, ed ispirate possono indurre delle vere emorragie bronchiali o polmonari.

Pericolose sono anche le polveri di pietra, specie quelle del quarzo, che oltre ad essere taglienti come le metalliche, possono presentare delle insenature che le rendono vieppiù dannose; pericolose sono pure le polveri di madreperla e di cocco.

Le polveri organiche che derivano dal legno, per essere raspose, riescono anche dannose, quantunque in grado minore delle precedenti, delle quali sono anche meno dure.

Fra le polveri di fibre vegetali sono più pericolose quelle di inta che sono foggiate a pennello.

Le polveri di fibre animali non offrono un gran pericolo; le più nocive sono quelle che si ricavano dalle manipolazione delle carni e delle pelli.

## Suolo.

Come l'esame dell'aria, anche quello del suolo era per l'addietro un semplice esame batterioscopico. In seguito, col progredire della scienza, quest'esame si è diviso in microscopico e batteriologico e si è data a quest'ultimo la maggiore importanza.

*Esame microscopico.* — Alcuni affermano che esso possa rivelare la natura minerale del terreno; ma, si comprende come, sia impossibile, possa condurre a un risultato di tal genere. Piuttosto esso può servire per studiare tutto ciò che sta attaccato, per dir così, alle sue particelle, e che non può essere rivelato dall'esame batteriologico.

Si preleva anzitutto una certa quantità di terreno (da mezzo ad un cent. cubico) con un cucchiaino di platino o di altro metallo precedentemente ben sterilizzato e la si emulsiona con acqua distillata e sterilizzata semplice o contenente del cloruro di sodio (0,75 per cento). Si esamina quindi una goccia del liquido dapprima con un ingrandimento di 100 diametri, e poi con uno maggiore di 400-600 diametri.

Si comprende di leggieri l'insufficienza di questo metodo, perchè il terreno se non è ben diviso in finissime particelle, non si presta all'indagine microscopica.

Meglio è di porre il terreno prelevato in un matraccio Erlenmayer, contenente acqua o *Nall* al 0,75 %, sbattere ben bene, e poi esaminare l'acqua di lavaggio, sia col metodo dei preparati a fresco, che con quello a goccia pendente. Si viene così ad aver notizia di ciò che è sospeso, e che ordinariamente è costituito da protozoi, alghe od ifomiceti; si completa poi l'esame osservando ciò che resta nel fondo del matraccio.

Emmerich propose (a proposito però dell'esame batteriologico) di sbattere da 2 a 5 cmc. di terreno con 50 cmc. di acqua in un recipiente che avesse un fondo concavo, e che, fosse provvisto di una fine rete metallica a poca distanza del fondo stesso. Su questa rete si raccoglierebbe il terreno; sotto alla rete e nel fondo concavo si raccoglierebbe l'acqua di lavaggio.

L'operazione poi dovrebbe ripetersi una ventina di volte. Ma anche così praticando, il terreno resta sempre costituito da particelle grosse che non permettono l'esame al microscopio.

Meglio è, di tritare prima il terreno in un mortaino di porcellana (previamente sterilizzato col farvi bruciar dentro dell'alcool) e ridurlo così in finissima polvere. Una certa quantità di questo terreno si sottomette poi a quell'operazione che per analogia a quella che si pratica sugli amidi chiamerei *levigamento del terreno*. Io pongo il terreno entro un recipiente fatto a guisa di un comune estrattore, costituito quindi da un tubo di metallo diviso a metà da una reticella con un tubo alle due estremità, chiuso ciascuno da

un rubinetto o da un tubo di gomma stretto da una pinza (V. Batteriologia: esame batteriologico del suolo).

In questo recipiente si sbatte molte volte il terreno con acqua che si ricambia dopo aver fatto depositare la parte più grossolana. Aprendo il rubinetto inferiore l'acqua di lavaggio si fa uscire e si raccoglie in un bicchiere a calice. Appena formatosi un piccolo deposito si decanta in un altro bicchiere e così via in un terzo e in un quarto, esaminando poi il deposito che si viene a formare costituiscono il reperto, dell'esame microscopico del suolo, a parte le sostanze minerali, sostanze organiche, esseri viventi per i quali rimando all'esame microscopico dell'acqua.

## ESAME MICROSCOPICO DEI TESSUTI, DELLE PELLICERIE E DELLA CARTA.

### Tessuti.

I tessuti sono formati di quelle sostanze che si riducono in fini elementi suscettibili di intreccio, e che prendono il nome di *fibre tessili*, le quali presentano caratteri abbastanza distinti tra di loro in modo da esser possibile di risolvere i seguenti quesiti:

- 1° quali siano le fibre tessili che compongono un tessuto;
- 2° se un tessuto sia formato da fibre tessili nuove o provenienti da tessuti usati.

1. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE QUALI SIANO LE FIBRE TESSILI CHE COMPONGONO UN TESSUTO. — Le fibre tessili più usate in commercio sono:

1° *Fibre vegetali*, rappresentate da:

- a) cotone (peli dei semi di vari *gossypii*);
- b) canapa (fibre del legno della *cannabis sativa*);
- c) lino (fibre del legno del *linum usitatissimum*);
- d) juta e (fibre del legno di alcuni *corchiuri*);
- e) ramiè, chinagras (fibre dei ramoscelli della *urtica nivea*).

2° *Fibre animali*, rappresentate da:

- a) lana (peli generalmente di ovini e caprini);
- b) seta (secreto delle glandole della *bombix mori* e di di altre specie selvatiche di *bombyx*, di *attacus*, di *antheria*, ecc.).

Ora, per riconoscere di quali di queste fibre tessili sia formato un tessuto, si procede allo esame microscopico, microchimico e polariscopico.

Il materiale si ottiene dilacerando un po' di tessuto e osservandolo senz'altro in acqua glicerinata, salvo il caso in cui si tratti di filati o tessuti colorati od apparecchiati, poichè bisogna innanzi tutto far bollire il materiale (per privarlo del colore e dell'apparecchio) in acido cloridrico al 3-5 % o in altri liquidi (soluzione di cloro, acido cromatico diluito, carbonato potassico 2-3 %): sarà utile anche lavare prima il materiale in etere allorchè si tratti di tessuti sudici o grassi.

*L'esame microscopico* permette di riconoscere le singole fibre tessili, che compongono un tessuto tenendo presenti i caratteri riguardanti la loro forma, il loro aspetto, la presenza o no di un lume centrale, il modo di presentarsi degli estremi ecc., come si può rilevare dalla tabella seguente:

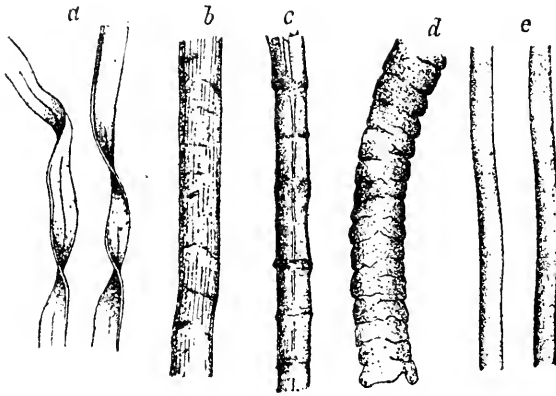


fig. 68.

TAB. 5.

CARATTERI MORFOLOGICI

Nome delle fibre tessili	Forma e aspetto	Lume centrale
Cotone (fig. 68 a)	Elementi generalmente appiattiti, nastriformi, attorcigliati, a spira: possono però trovarsi di quelli per lungo tratto cilindrici e simili alle fibre di lino.	Nelle qualità scadenti (indiane) tre o quattro volte più grasse dello spessore delle pareti, nelle Cne (americane ed egiziane) ristretto: in qualcuna può anche mancare (fibre non mature tendenti alla forma cilindrica).
Canapa (fig. 68-b)	Elementi cilindrici con rigonfiamenti qua e là poco appariscenti.	Abbastanza ampio terminante verso la punta della fibra in una linea appena visibile.
Lino (fig. 68-c)	Elementi cilindrici, trasparenti, con rigonfiamenti a canna di bambù.	Esilissimo appena come una linea giallognola.
Juta	Elementi cilindrici spesso uniti a fasci.	Lume ampio, e qua e là delle stagnature.
Ramiè	Elementi cilindrici simili alle fibre di juta.	Lume assai ampio.
Lana (fig. 68 d)	Elementi cilindrici costituiti di: 1° uno strato epidermico di cellule disposte a embrice (che manca nelle lane molto lavorate, nelle ungheresi, nei merinos). 2° di uno strato corticale costituito da fibrille giustapposte. 3° da uno strato midollare di cellule poligonali (che nelle lane bianche si presenta come una linea oscura) il quale nelle migliori lane deve essere appena visibile.	
Seta (fig. 68-e)	Elementi quasi perfettamente cilindrici, lucenti, omogenei senza alcuna striatura (questa però si trova nelle sete esotiche e l'acido cromico la rende anche più manifesta) dritti, regolari (alcune sete esotiche soltanto presentano i fili avvolti a spirale).	Siccome ogni filamento è costituito da due metà giustapposte, il punto di unione delle due metà a volte può rassomigliare ad un lume.



## ELLE SINGOLE FIBRE TESSILI

Caratteri speciali degli estremi	Caratteri speciali lungo il percorso della fibra	Dimensioni e rapporto tra la lunghezza e il diametro
Generalmente terminano con una estremità a punta arrotondata uniforme e coll'altra tronca o sfilacciata.	Allo stato greggio sono rivestite di una cuticola che è insolubile nel reattivo di Schweitzer.	Variabile: per lo più spesse 12-14 $\mu$ e lunghe 40-40 mm.
Estremi arrotondati, a volte con diramazioni laterali.	Rigonfiamenti o nodi lungo il percorso.	Larghe 22 $\mu$ e lunghe 15-25 mm. Rapporto della lunghezza al diametro circa 1000.
Estremi a punta.	Idem ma molto più pronunciati: le fibre sono striate longitudinalmente.	Larghe 40-26 $\mu$ e lunghe 25-30 mm. Rapporto della lunghezza al diametro circa 1200.
Estremi a punta arrotondata o irregolare.	Senza striatura longitudinale né nodi.	Larghe 20-25 $\mu$ e lunghe 1,5-5 mm. Rapporto della lunghezza al diametro 90.
Estremi arrotondati difficilmente ritrovabili.	Striate longitudinalmente: con nodi e striature trasversali.	Larghe 40-80 $\mu$ e lunghe 65-250 mm. Rapporto della lunghezza al diametro 2400
		Larghe 45-40 $\mu$ e lunghe 40-200 mm.
		Larghe 8-24 $\mu$ e lunghe 350-1250 mm.

Tenendo presenti i caratteri microscopici delle singole fibre si possono svelare le frodi, che sono assai comuni in commercio, consistenti nel fabbricare tessuti di lana o di seta mescolando a queste altre fibre tessili, p. es., di cotone.

L'esame microchimico dei tessuti si pratica trattandoli con diversi reagenti, che in massima servono a far distinguere le fibre animali dalle vegetali, cioè:

a) con iodio ed acido solforico, o più semplicemente con il clorioduro di zinco: le fibre vegetali contenenti cellulosa assumono una colorazione violetta, mentre le animali assumono una tinta gialla;

b) con una soluzione eupro-ammoniacale o reattivo di Sweitzer: le fibre vegetali contenenti cellulosa si disciolgono più o meno rapidamente, fatta eccezione di quelle che contengono la suberina, le quali poi resistono anche all'acido solforico ed agli alcali;

c) col solfato di anilina, le fibre vegetali contenenti lignina assumono una colorazione giallo-oro che non è assunta dalle fibre animali;

d) cogli acidi: l'acido solforico ed il nitrico al 25 % non disciolgono alcuna fibra vegetale, nè impartiscono loro colorazione alcuna, mentre colorano in giallo le fibre animali; l'acido picrico colora in giallo fibre vegetali e fibre animali; però con il lavaggio successivo nell'acqua le fibre vegetali si scolorano, mentre le animali rimangono colorate;

e) con gli alcali: la potassa al 10 %, anche bollente, non dissolve le fibre vegetali, mentre invece dissolve le fibre animali;

f) colle sostanze coloranti, anilinarie, mentre le fibre vegetali assumono piuttosto stentatamente i colori di anilina, le fibre animali li assumono facilmente;

g) con reattivi speciali: il reattivo di Nylander impartisce un caratteristico colorito nero alla lana per la combinazione dello zolfo, che essa contiene, col bismuto del reattivo, essendo questo formato da sale di Seignette grammi 4, soluzione di idrato sodico al 9 % gr. 100, e sottonitrato di bismuto grammi 2.

In genere i procedimenti che si adottano sono i seguenti (Nasini e Villavecchia):

1° Per distinguere le fibre animali (lana, seta), da quelle vegetali (canapa, cotone, lino, ramie, ecc.):

a) accendendo ad una fiamma le fibre isolate od in piccoli fascetti, quelle animali bruciano svolgendo fumi con odore di corna bruciate e con reazione alcalina, e lasciano un carbone spugnoso e pesante, che dà un residuo abbondante di ceneri; le vegetali invece bruciano con fiamma viva spandono

fumi di odore empireumatico con reazione acida, e lasciano un carbone che dà poche ceneri;

*b)* la soda o la potassa all'8 % a caldo sciolgono le fibre animali, lasciano quasi intatte le vegetali;

*c)* l'acido nitrico colora la lana e la seta in giallo e lascia scolorati il cotone e il lino.

Ricorderò anche il metodo del Vétillard per distinguere le varie fibre vegetali, fondato sull'esame microscopico delle fibre in direzione longitudinale e in sezione trasversale, e sulla colorazione con l'iodio e coll'acido solforico diluito (vol. 3  $H_2SO_4$  a 60° + vol. 2 glicerina + vol. 1 acqua distillata). Con questo trattamento l'A. ha distinto le fibre in due gruppi, a seconda che si colorano in azzurro (lino, canapa, cotone) o giallo (juta) e ha trovato altre particolarità sulle quali non insisto.

2° *Per distinguere le fibre di seta da quelle di lana:*

*a)* trattando le fibre con potassa caustica e sciogliendole, con nitroprussiato di soda, si avrà una colorazione violetta se vi è lana, nessuna colorazione se vi è seta;

*b)* trattando le fibre a freddo con il reattivo di Schweitzer si scioglieranno le fibre di seta, non quelle di lana;

*c)* trattando a caldo le fibre con cloruro di zinco basico, le fibre di seta si sciolgono, mentre quelle di lana vengono attaccate solo debolmente.

3° *Per distinguere le fibre di lino da quelle di cotone:*

*a)* trattando il tessuto con acqua leggermente acidulata e poi lavando con acqua ammoniacale le fibre di cotone si staccheranno, rimanendo quelle di lino a formare lo scheletro della tela;

*b)* immergendo la tela, priva dell'apparecchio e del colore, nell'olio di oliva, e poi spremendo l'eccesso d'olio ed osservando per trasparenza, le fibre di cotone appariranno bianche ed opache, mentre le fibre di lino appariranno traslucide.

*L'esame polariscopico*, può essere utile in alcuni casi: per esempio per assicurarsi se un tessuto sia composto di fibre di juta o di lino o di ambedue.

All'uopo si scaldano le fibre con acido nitrico ordinario cui si aggiunge una traccia di clorato potassico, si lava con acqua pura e poi con acqua alcalinizzata con potassa per neutralizzare l'acido trattenuto nelle fibre; si decanta il liquido e si agitano le fibre con altra acqua pura. Così le fibre si dissociano e possono osservarsi ponendole, ancora umide, sopra un vetro portoggetti, lasciando evaporare il liquido, e aggiungendo una goccia di glicerina.

In tali condizioni le fibre non solo lasciano apparire in modo nettissimo l'ispessimento caratteristico delle pareti, ma permettono il saggio alla luce polarizzata. Collocando il preparato fra i due primi di nicols incrociati del microscopio, con un ingran-

dimento di 600 diametri, si nota che mentre le fibre di lino e canapa presentano dei bellissimi effetti luminosi, quelle di juta mostrano un colore sensibilmente uniforme, azzurrognolo o giallastro: questo però naturalmente non avviene che per le fibre completamente dissociate, giacchè con le fibre aggregate e sovrapposte si ottengono dei fenomeni luminosi e complessi, analoghi a quelli del lino (Revelli).

2. ESAME MICROSCOPICO PER RICONOSCERE SE UN TESSUTO SIA FORMATO DA FIBRE TESSILI NUOVE O PROVENIENTI DA TESSUTI FUORI DI USO. — I vecchi tessuti di lana mescolati con lana nuova e anche a volte con seta, lino e cotone, opportunamente lavorati, costituiscono la così detta lana rigenerata, artificiale, meccanica o shoddy.

Riconoscere qualitativamente nei tessuti di lana rigenerata le fibre che non siano di lana non è difficile, ricorrendo agli ordinarii metodi di indagine, di cui si parla nel paragrafo precedente. Riconoscere invece, in un tessuto di lana, se le fibre di lana siano di lana nuova o di lana rigenerata è cosa alquanto più difficile, e basata quasi unicamente sull'esame microscopico.

Con questo infatti si rileva (Revelli):

1) che le fibre di lana rigenerata che si trovano in un tessuto, si presentano generalmente di tinte molto diverse, ciò che dimostra non essere state colorate con lo stesso processo, ma diversamente a seconda dei tessuti dai quali provenivano;

2) che le fibre di lana rigenerata non sono così regolari come quelle della lana nuova, perchè si restringono a poco a poco, o tutt'a un tratto, poi di bel nuovo si dilatano in una espansione per ancora restringersi o mantenersi regolari per un certo tratto: in molti punti le scaglie sono andate perdute; in altri il pelo è guasto, di guisa che il diametro diventa minore del normale, nè è raro si riduca a  $10 \mu$  e anche meno. Inoltre gli estremi dei singoli fili, si presentano troncati in modo brusco e irregolare, mentre nella lana nuova terminano in fibrille ondulate ed esilissime;

3) che le fibre di lana rigenerata, trattate con lisciva di soda o potassa, vengono intaccate e gonfiate più rapidamente che quelle di lana nuova, e che l'acido solforico concentrato distrugge la struttura primitiva del pelo della lana rigenerata molto più rapidamente che quella del pelo della lana nuova.

Per procedere a queste ultime ricerche, occorre seguire il metodo dello Sclesingen: cioè, collocare a croce sul portoggetti un pelo di shoddy e un

pelo di lana nuova filata: quindi lavatala e spogliatala del sudiciume e della materia grassa, far venire in contatto con le due fibre il reagente, notando il momento in cui esso tocca i peli. Si mette quindi il coprogetti e si osserva al microscopio con un ingrandimento di 65 diametri.

In quanto poi a riconoscere in un tessuto in cui si sia dimostrata la presenza di lana rigenerata la quantità di quest'ultima, bisogna ricorrere alla numerazione delle fibre stesse, calcolandone il rapporto con quelle della lana nuova: il numero delle fibre da contare non deve essere inferiore a 1000.

## Pelliccerie.

Coi peli di vari animali sono formati gli oggetti di pellicceria, salvo quelli che sono fatti con le piume degli uccelli.

L'esame microscopico delle pelliccerie si pratica:

1° per riconoscere se gli articoli siano realmente fatti con peli e non con fibre tessili o con piume, al che si procede coi metodi di indagine microscopica già indicati per i tessuti.

2° per riconoscere da quale animale provenga il pelo.

All'uopo si trattano i peli con acqua alcoolizzata, si passano in soluzione diluita di carbonato sodico, si lavano e si osservano tenendo presenti quei caratteri che sono stati indicati per i vari peli.

Per esempio se si tratta di *zibellino* si troveranno peli in cui il canale midollare è molto visibile, e un'embricatura che agli orli esterni del pelo è marcatissima, e i cui estremi hanno una specie di striatura dovuta alle scaglie epiteliali.

Se si tratta di *lontra* si troveranno peli in cui il canale midollare presenta, in contatto con la parte corticale, dei restringimenti, un aspetto molto granuloso, delle scaglie grandi, degli estremi solcati da strie, ecc.

## Carta.

L'esame microscopico della carta ha per oggetto di stabilire:

1° di quali fibre la carta sia costituita;

2° quale sia lo stato in cui queste fibre si trovano;

3° se le fibre contengano conglomerate delle sostanze eterogenee.

1. *L'esame microscopico per riconoscere di quali fibre sia costituita la carta* si fa per stabilire se nella carta si trovino fibre legnose in genere, perchè queste, nella carta destinata a conservarsi a lungo, vanno considerate come una sofisticazione, essendo una delle cause principali di deterioramento.

All'uopo si fanno bollire frammenti di carta in soda all'1-2 per cento nei casi più ordinari, ovvero si tratta prima la carta con acqua e alcool, se si sospetta la presenza della lana, o anche con acqua sola, quando si tratti di carta non incollata; poscia si passa il materiale attraverso un setaccio a maglie finissime, si lava ciò che rimane sul filtro con molta acqua: poi si pone in una capsula di porcellana, aggiungendo una piccola quantità d'acqua, e si agita sino a ottenere l'isolamento delle singole fibre. Queste, poste sul vetro portoggetti, si esaminano e potranno subito essere riconosciute per le fibre tessili che ordinariamente usansi nella confezione dei tessuti, ovvero per altri materiali vegetali, che con esse non hanno relazione.

La ricerca, del resto, può essere facilitata procedendo a diverse reazioni anche sotto il campo microscopico, poichè si sa:

a) che con una soluzione iodoiodurata glicerinata (gm. 1.15 di iodio, gm. 2 ioduro di potassio, 1 cmc. glicerina, gm. 20 d'acqua), le fibre di legno e di iuta si colorano in giallo; la paglia e lo sparto rimangono incolori; il cotone, il lino, la canapa si colorano in bruno;

b) che con l'iodio e l'acido solforico si ottiene una colorazione ben della cellulosa pura, gialla del legno, verde delle cellule meno lignificate;

c) che con la fluoroglucina e l'acido cloridrico, si ha una colorazione più o meno rossa delle parti lignificate, mentre la cellulosa rimane inalterata, ecc.

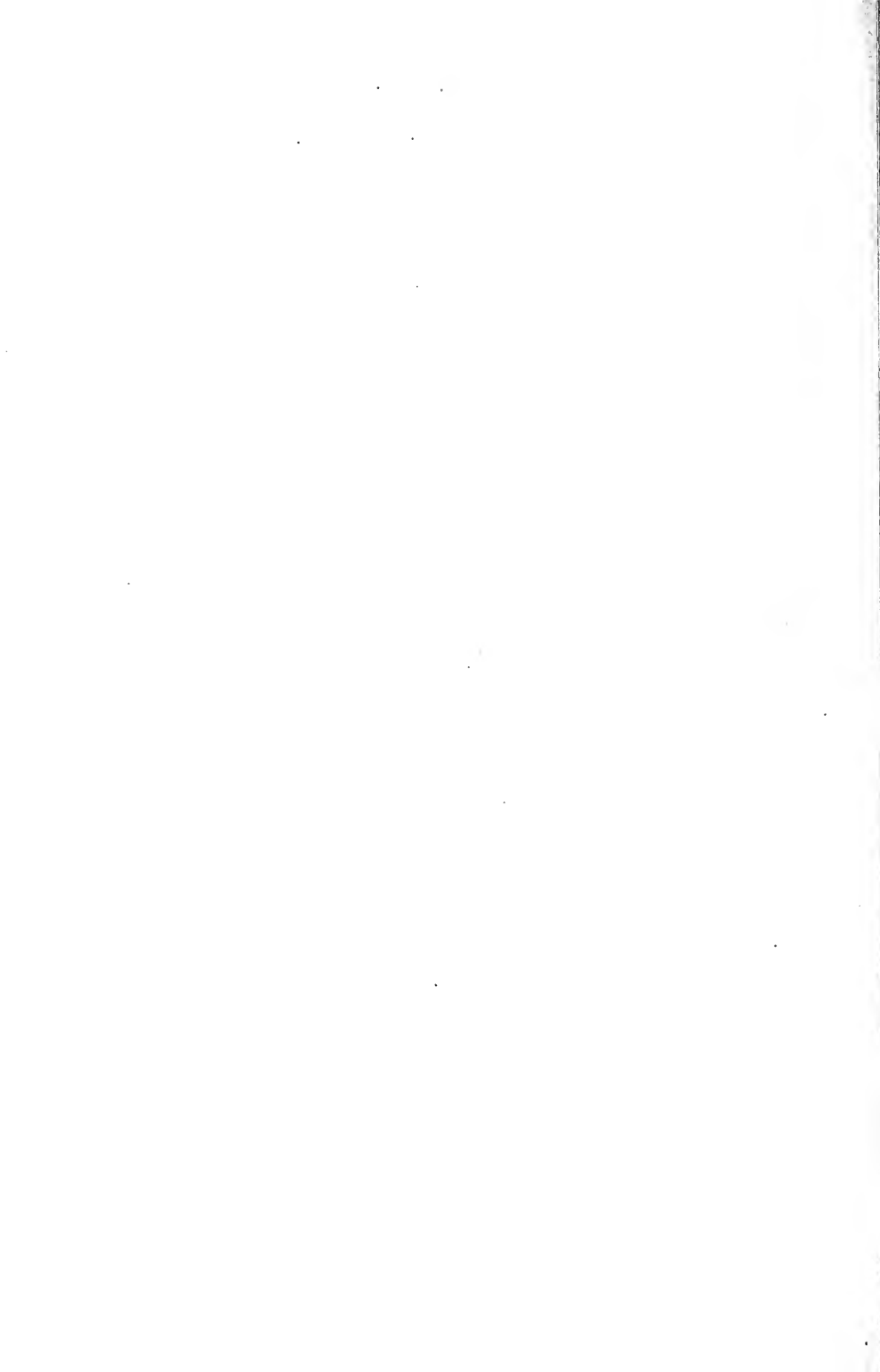
2. *L'esame microscopico si fa per riconoscere se le fibre contengano conglomerate sostanze eterogenee*: può così mettere per es., in evidenza dell'amido. Le polveri minerali (argilla, creta, gesso, solfato di bario) solo fino a un certo punto possono essere rivelate dal microscopio. La ricerca di sostanze nocive alla salute, per esempio dell'arsenico, non entra nell'esame microscopico. Ricorderemo però che si pratica (metodo Gosio) innestando in un pezzetto di patata sterilizzata un po' della carta e poi seminando sulla patata il *penicillium brevicaulis*. Se evvi arsenico, si noterà un caratteristico odore di aglio.

PROF. A. CELLI

---

**PROTOZOLOGIA**  
**(PROTOZOI PATOGENI PER L'UOMO)**

---





---

# PROTOZOLOGIA

## (PROTOZOI PATOGENI PER L'UOMO)

---

### PARTE GENERALE

Lo studio dei protozoi patogeni cominciò prima che quello dei batteri patogeni.

Nel 1837 il Donnè descrisse il *trycomonas vaginalis* e lo cre dette la causa della sifilide. Nel 1843 il Gruby scoprì il *trypanosoma sanguinis* e il Miescher i sarcosporidi; nel 1855 il Cornalia trovò i suoi corpuscoli nella pebrina del baco da seta, e su questa malattia e sul modo di preservarne l'industria, fin dal 1867, il Pasteur fece i suoi famosi studi. Nel 1877-78 il Woronin trovava nei tumori delle radici della rapa la *plasmodiophora brassicae*; nel 1878-79 Rivolta e Leuckart iniziavano le ricerche sui coccidi del coniglio; nel 1879-80 il Laveran fece sugli ematozoi della malaria le sue prime e fondamentali osservazioni, che furono seguite dalle nostre, dal 1882 in poi, e nel 1887-88 da quelle del Danilewski sui parassiti endoglobulari nei vertebrati inferiori.

Nell'ultimo venticinquennio si è raccolta man mano una letteratura sempre più vasta, che oggi ha i suoi periodici speciali (Archiv für Protistenkunde, di Schaudinn), e i suoi speciali trattati; fra questi segnalo il più moderno e il più completo, quello del Doflein, avvertendo che, nell'espone un breve compendio, ad uso dei medici, mi occupai quasi esclusivamente e a grandi tratti dei soli protozoi patogeni per l'uomo.

\*  
\*\*

I protozoi sono esseri unicellulari; la loro grandezza varia da pochi  $\mu$ , come quella di un globulo rosso, ad alcuni centimetri. La loro struttura è quella di una cellula: hanno quindi proto-

plasma, uno o più nuclei e membrana. Questa però in alcune condizioni di vita endocellulare e libera può non aversi.

La sostanza nucleare può essere diversamente distribuita nel protoplasma: cioè può essere raccolta in un nucleo principale o macronucleo, e in un micronucleo, detto anche centrosoma per la sua grande importanza biologica, ovvero può essere diffusa in forma di un reticolo di granuli o aghi di cromatina. Queste singole particelle di cromatina si chiamano anche cromidii. Il macronucleo ha funzione vegetativa, i cromidii raccolti in macro o micronucleo, ovvero diffusi per la cellula, hanno funzione riproduttiva.

Il protoplasma è granuloso ovvero jalino, omogeneo, e secondo queste varie condizioni si colora più o meno con gli speciali reagenti; esso esercita per mezzo di piccoli organi od organoidi le varie funzioni vitali, come sensibilità, movimento, nutrizione, resistenza nell'ambiente, sviluppo fino a un certo limite, riproduzione.

Ad esempio la *sensibilità* e il *movimento* si manifestano:

- a) per mezzo di contrazioni e deformazioni di tutto il corpo;
- b) per mezzo di pseudopodi; cioè il corpo cellulare emette prolungamenti o gettoni per cui il protozoo cambia continuamente di forma, e quando si fa immobile diventa rotondeggiante;
- c) per mezzo di flagelli, che imprimono al corpo del protozoo il movimento di traslazione, certe volte assai vivace, come nei tripanosomi, ne' quali il flagello si continua, per tutta la lunghezza del corpo, in una membrana ondulante;
- d) per mezzo di ciglia, che alla periferia di una parte o di tutto il corpo, come nel *balantidium coli*, con le loro vibrazioni rapidissime imprimono il movimento di locomozione.
- e) per mezzo di fibrille contrattili, come nei ciliati.

La *nutrizione* si compie in alcuni protozoi per tutto il protoplasma che incorpora le sostanze nutritive o le assorbe per osmosi, ovvero si compie in uno o più vacuoli digestivi: il residuo della digestione è fatto da granuli di aspetto e composizione chimica differente, che sono emessi all'esterno. I vacuoli digestivi non si debbono confondere coi vacuoli contrattili che servono ad espellere i materiali di rifiuto, e forse anche ad una circolazione rudimentale.

In altri protozoi più evoluti una parte del protoplasma acquista la funzione di polo boccale (citostoma) da cui sono attratte le sostanze nutritive e introdotte nel corpo cellulare; al polo boccale può corrispondere anche un polo anale (citopigio), per l'emissione dei materiali di rifiuto.

Nei protozoi ancora più evoluti gli organoidi della nutrizione si differenziano maggiormente fino ad aversi dei veri e propri apparati succhiatori, come, ad esempio, nei suetorii, provvisti d'una specie di calice, circondato da tante appendici le quali si attaccano, a mo' di ventosa, sulle sostanze da ingerire. Cosicchè dalle più semplici forme di funzione nutritiva si passa gradatamente a quelle più differenziate.

La *riproduzione* può essere o asessuale (monogonia) o sessuale (anfigonia o sporogonia): e sempre vi prende una parte importantissima la cromatina che si suddivide e si diffonde in due o più particelle che fanno come da polo di attrazione delle nuove masse protoplasmatiche.

La riproduzione asessuale si compie per divisione regolare, che può essere o longitudinale, o trasversale, o per gemmazione, a figure o lobi simmetrici, per esempio, a rosetta; ovvero si compie per divisione irregolare: in ogni modo fino a che il parassita resta nello stesso ospite può ripetersi a lungo, per molte e molte successive generazioni, come avviene per esempio nelle recidive delle febbri da malaria.

Nella riproduzione sessuale si può avere o la fusione di due esseri uguali, cioè isogamia, come nei tripanosomi, o la fusione di due esseri differenziati sessualmente, cioè eterogamia. In tale ultimo caso si hanno: il protozoo maschile, o cellula spermatozoide, con gli spermatozoi o microgameti, e il protozoo femminile, o cellula uovo, o macrogamete. Questo viene circondato da microgameti, dei quali uno solo penetra nella cellula femminile, compiendone la fecondazione; dopo di che si ha una moltiplicazione e suddivisione della cromatina, cioè una proliferazione polinucleare e in definitiva la genesi di tanti esseri nuovi. Un esempio tipico di questa riproduzione sessuale lo incontreremo nei coccidi e negli emosporidi.

Talora la riproduzione sessuale avviene anche mediante uno scambio di sostanze fra nucleo maschile e femminile.

In ogni modo finchè il parassita si mantiene nello stesso ospite si riproduce indefinitamente per divisione; ma se abbandona questo ospite per entrare in un altro, allora assicura la specie mediante la riproduzione sessuale.

*Dimora.* — Son numerosi i protozoi che possono fare una vita libera nell'ambiente, come nei liquidi e nei luoghi molto umidi; e se incontrano condizioni a loro sfavorevoli, per esempio il disseccamento, allora si circondano, per resistere, di una membrana segregata dal protoplasma, ed entrano così nello stadio

cistico. A noi però interessano soltanto entozoi, che vivono cioè dentro altri esseri. Ma non tutti gli entozoi sono parassiti, altri invece sono simbiotici, ed altri semplici commensali; i simbiotici vivono, è vero, a spese dell'ospite, ma emettono anche sostanze che riescono utili ed assimilabili per l'organismo entro cui dimorano; i commensali invece vivono, p. es., nell'intestino a spese della materia nutritiva grezza, cioè non ancora elaborata dall'ospite, ovvero a spese delle sue sostanze di rifiuto.

Gli entozoi parassiti si nutrono invece della materia viva dell'organismo dell'ospite, p. e., del protoplasma cellulare, oppure dei succhi nutritivi, resi cioè assimilabili dall'ospite stesso, e necessari perciò alla sua esistenza. In tal modo essi riescono oltremodo nocivi così alle cellule, come ai tessuti ed agli organi.

Fra gli entozoi parassiti che vivono a spese della cellula ve ne sono di quelli che hanno dentro la cellula stessa varia sede d'elezione. Alcuni (*kariophagus*) vivono a spese del nucleo, altri a spese del plasma.

Entoparassiti dei tessuti sono invece quelli che vivono, p. es., nel derma e nel sangue: tra questi ultimi l'emosporidio della malaria vive nei globuli rossi e nel plasma.

Fra gli entoparassiti degli organi ve ne sono di quelli che vivono in mezzo agli enzimi dei succhi digestivi senza esserne toccati. Per spiegare questa resistenza si può supporre che gli entozoi elaborino antienzimi che neutralizzano gli enzimi digerenti e gli altri enzimi organici: la questione però è ancora controversa, e si riannoda con quella della autodigeribilità o non dello stomaco.

*Azione patogena confrontata con quella dei batteri.* — Molte delle alterazioni che derivano dai protozoi rientrano nel campo della vera patologia cellulare. Ogni protozoo che vive a spese di una cellula v'induce una malattia. Se l'invasione protozoaria è limitata, in una parte del corpo, a un gruppo di cellule, si può avere un tumore, o un'altra malattia locale: se invece è generalizzata a cellule così diffuse come sono i globuli rossi ne viene una infezione generale qual'è la malaria. In questi casi l'azione patogena è diretta o immediata dal protozoo alla cellula ospite.

Ma si potrebbe avere anche un'azione patogena indiretta, quando cioè il protozoo segregasse materiali tossici. Quest'ultima è la maniera per la quale esercitano principalmente la loro azione patogena i batteri; ma non è ancora sicuramente dimostrata nei protozoi, che finoggi non è certo se riescano a produrre eventuali proteine, tossine, ed emolisine.

Delle proteine dei protozoi si è supposta l'esistenza per spiegare certi speciali effetti patologici in alcune infezioni protozoarie; ma si è tentato finora isolarle soltanto da protozoi così grossi come i sarcosporidi, o protozoi delle carni, triturando i quali, si è avuto un estratto acquoso e glicerico, che inoculato riesce tossico letale in proporzione di 5 milligr. di sostanza fresca per 1 kil. di peso di coniglio, e dà sintomi coleriformi, mentre in piccole, ripetute dosi conduce alla cachessia.

È da notare però che effetti simili si hanno anche inoculando tessuti fisiologici, come la tiroide.

Quanto alle tossine dei protozoi si è parlato, ad es. di pirotoossine della malaria; ma non potei dimostrarle neppure raccogliendo, da molti malarici, grandi quantità del siero del sangue ne' vari periodi dell'accesso febbrile, e inocolandolo poi anche dentro le vene. E nemmeno dal coefficiente urotossico delle urine dei malarici si è ricavata alcuna prova certa d'una simile pirotoossina. È poi dimostrato che si possono avere febbri alte con pochi e scarsi parassiti nel sangue e viceversa.

Lo stesso dicasi del meccanismo della febbre nell'infezione da tripanosomi. D'altronde è ancora sempre oscura eziandio nelle infezioni batteriche la patogenesi della febbre. E neppure sono dimostrate altre eventuali tossine dei protozoi, che potrebbero spiegarci la cachessia caratteristica della infezione malarica, e di altre infezioni protozoarie; come non si sa nulla dei prodotti tossici che possano derivare dalle necrosi cellulari causate dai protozoi.

Le emolisine, finalmente, parrebbe ovvio ci fossero almeno nelle infezioni protozoarie del sangue, che viene a subire certe volte perdite enormi di globuli rossi; ma sinora non si sono potute dimostrare se non, forse, nella malaria bovina, in cui è molto frequente l'emoglobinuria.

Concludendo, poco o nulla si sa per ora delle sostanze tossiche, elaborate dai protozoi.

*Reazioni dell'ospite.* — Son dirette a neutralizzare l'azione patogena e possono essere reazioni o cellulari od umorali. Le prime danno le neoformazioni cellulari o connettivali, che tendono a circoscrivere o ad incapsulare i parassiti. Se le cellule neofornate esercitano una vera e propria fagocitosi sui protozoi non è ancora dimostrato neppure pei globuli bianchi nella infezione malarica e nella tripanosomiasi, in cui pur si vedono i leucociti inglobare gli ematozoi, de' quali resta fuori soltanto il flagello che continua i suoi movimenti vorticosi.

La reazione umorale dell'organismo contro i batteri si manifesta, com'è noto, mediante le agglutinine, batteriolisine, antiemolisine, antitossine, o mediante sostanze immunizzanti (alesine ecc).

Delle agglutinine si è creduto dare una dimostrazione nel sangue malarico in cui le emazie si agglutinerebbero fra loro per causa di una supposta agglutinina segregata dai plasmodi: questa reazione avrebbe dovuto essere un segno diagnostico anche della malaria latente, ma questi fatti e queste speranze non ebbero indiscentibile conferma.

Nell'infezione da tripanosomi una reazione agglutinante c'è, ma è leggera ed incompleta, giacchè mentre una porzione di questi protozoi si raggruppano fra loro, altri, alla periferia della zona di agglutinamento, rimangono mobili.

Quindi nelle infezioni da protozoi non si può ancora parlare di vere agglutinine. E neppure si può ancora parlare di protozoolisine; anzi vi hanno degli ematozoi che in tutta o in parte della loro vita che noi conosciamo vivono liberi nel siero del sangue.

Nulla sappiamo ancora di eventuali sostanze antitossiche ed antiemolisiniche.

Quanto a sostanze immunizzanti verso i protozoi, si può avere un'immunità naturale o congenita ed un'immunità acquisita dopo sofferta la malattia. L'immunità artificiale si è tentato provocarla nella tripanosomiasi; inoculando successivamente sangue infetto ad animali suscettibili è riuscito fare acquistar loro una immunità attiva; ed è riuscito, in quest'unico caso, produrre un siero immunizzante e curativo, ma di così debole potere che finora contro i protozoi possiamo dire non vediamo possibile una sieroterapia.

Dunque il meccanismo dell'azione patogena e della immunità nelle malattie da protozoi è alquanto diverso che nelle malattie dei batteri.

*Autodegenerazioni:* consistono in vacuolizzazioni e successive disgregazioni che certe volte possono simulare una moltiplicazione per scissione, e ci spiegano la guarigione spontanea di un processo infettivo da essi determinato. Così ad. es. si disgregano e muoiono le forme sessuali de' plasmodi malarici, che nel sangue circolante e negli organi dell'uomo non trovano più le condizioni di vita, che trovano invece passando nello stomaco delle zanzare.

## METODI DI RICERCA DEI PROTOZOI.

## PREPARATI A FRESCO.

Sono da preferirsi specialmente per fare una rapida diagnosi sommaria e per vedere il movimento. Si possono fare (sangue) senz' alcuna aggiunta avvertendo solo che copri e porta oggetti siano pulitissimi, e perciò prima passati in acido idroclorico, e successivamente in etere, od alcool, e poi conservati al di fuori della polvere. Per la pronta diagnosi degli ematozoari è questo ancora sempre il metodo più sbrigativo.

Notisi però che il sangue malarico deve essere schiacciato, coprioggetti contro portoggetti, sopra un panno o una carta sugante, che assorbono il sangue in eccesso. Torna comodo perciò tenere già porta e coprioggetti preparati e puliti entro carta sugante.

Altre volte ai materiali freschi (fegato, intestino, ecc.) si può aggiungere la soluzione fisiologica di cloruro di sodio (0,75 ‰).

Giova anche tener distaccato con piccoli sostegni il coprioggetti dal portoggetti, o esaminare su portoggetti concavi a goccia pendente. Quando i parassiti sono liberi nel siero di sangue (tripanosomi) è utile far precedere la centrifugazione del sangue.

Per vedere meglio i movimenti a fresco può essere utile anche il tavolino riscaldato (V. fig. 69) mediante circolazione di acqua calda alla temperatura che viene indicata dal termometro, quale si vede nell'orlo anteriore del tavolino stesso.

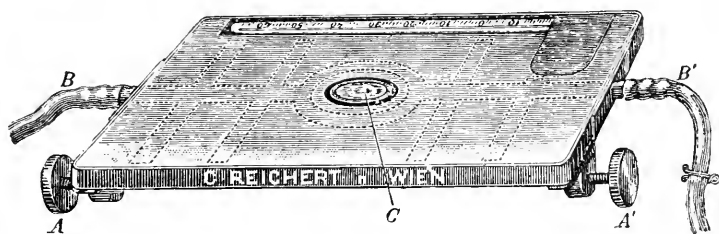


fig. 69.

## PREPARATI A FRESCO E COLORAZIONE VITALE.

Pel sangue si ottengono buoni risultati col turchino di metilene sciolto in liquido ascitico (Celli e Guarnieri), o col metodo seguente: sull'orlo di un vetrino coprioggetti si mette una piccola goccia di soluzione acquosa saturata di turchino di metilene: indi si fa combaciare quest'orlo con la superficie di un altro coprioggetti in modo da formare un angolo acuto, e così strisciando si distende il liquido colorante in uno strato sottilissimo e si fa essiccare. Su questo vetrino così preparato si pone una goccia di sangue, che poi si pone e si schiaccia su di un portoggetti: il preparato infine si circonda di vasellina.

## PREPARATI E COLORAZIONI A SECCO.

a) *Raccolta del materiale.* — Anzitutto bisogna fare la più scrupolosa pulizia dei vetrini, come sopra si è detto.

Per avere strati sottili, si prende il materiale (sangue, mucco, ecc.) col l'orlo di un coprioggetti, e con quest'orlo si striscia a man leggera su altri coprioggetti, l'un dopo l'altro.

Per la colorazione in massa del sangue malarico, Ross consiglia, quando i parassiti son pochi, prendere uno strato grosso di sangue, e poi dopo disseccato, liberarlo con acqua distillata, dalla emoglobina che occulterebbe la vista dei parassiti: questi, colorandoli, si vedono bene specialmente se appartengono alle forme più grosse. In tal caso però può servire per la diagnosi anche uno strato spesso di sangue a fresco.

b) *Fissazione.* — La fissazione del sangue sul copri o portoggetti si può fare col disseccamento all'aria (alle lampade per lo più nuoce) e poi in alcool assoluto per 20 minuti, o in miscela di alcool assoluto ed etere a parti uguali, per 2-5 minuti.

Per la fissazione di altro materiale (mucco, contenuto intestinale, ecc.), conviene usare il sublimato acetico (sublimato soluzione acquosa concentrata cc. 100, alcool assoluto cc. 50, ac. acetico gocce 5): dopo 10 minuti di azione, si lava per altri 10 minuti il preparato in acqua distillata e poi in alcool comune, e poi si colora, come diremo, p. es. in ematossilina di Grenacher.

c) *Colorazione semplice.* — I preparati di sangue essiccati e fissati col detto metodo si colorano con uno dei seguenti liquidi:

1. Turchino di metilene in soluzione alcoolica concentrata;
2. Ematossilina alluminosa di Erlich;
3. Tionina.

A tutti questi metodi è da preferirsi la colorazione col liquido Manson che risulta di turchino di metilene al borace secondo la seguente formula:

Turchino di metilene . . . . .	gr.	2
Borace . . . . .	»	5
Acqua distillata . . . . .	»	100

I preparati si tengono nel colore per 30 secondi a 1 minuto. I nuclei dei leucociti si colorano in azzurro oscuro, i globuli rossi in azzurro chiaro, i parassiti assumono una colorazione meno pallida dei globuli.

Koch usa l'istessa soluzione di Manson diluita fino a che allo spessore di un centimetro si rende trasparente.

Si può anche usare il turchino di metilene alla potassa secondo la formula di Lüttler.

I preparati di sangue con tripanosomi si colorano anche bene con soluzione alcoolica di fucsina, o con soluzione di fenato di tionina.

I preparati di mucco o altro liquido patologico si possono colorare anche col carminio boracico, o con ematossilina ferrica, o con ematossilina alluminosa di Delafield o di Grenacher, o con violetto di genziana, o con safranina.



Le colorazioni seguenti valgono specialmente pel sangue, e più in specie pel sangue malarico.

d) *Colorazione doppia*. — Si vengono a colorare diversamente i parassiti e le emazie approfittando della diversa affinità verso i colori di anilina.

1. Colorazione con turchino di metilene ed eosina.

A) soluzione acquosa concentrata di turchino di metilene;

B) eosina in soluzione alcoolica o acquosa al 2 ‰.

Si tengono i preparati nella soluzione A per 3'-4' e poi nella B per 1/2-1'.

Le emazie si colorano in rosso, i parassiti e i nuclei in turchino.

Possono usarsi i due liquidi mescolati insieme (Chenzinsky).

Soluz. acq. conc. di turchino di metilene	gr. 40
Soluz. 1/2 ‰ di eosina in alcool a 70 ‰	» 20
Acqua distillata . . . . .	» 40

Si tengono i preparati per 15'.

Questa soluzione si altera facilmente.

2. Colorazione con ematossilina ed eosina:

Nell'ematossilina per 5-10';

Nell'eosina per 1/2-1'.

Le emazie si colorano in rosso, i nuclei e i parassiti in violetto.

3. Colorazione con eosina, turchino di Borrel e tannino.

Soluzione di eosina Höchst 1 ‰	cc. 4
Acqua distillata . . . . .	» 6
Turchino di Borrel . . . . .	» 1

Il turchino di Borrel non è che turchino di metilene all'ossido d'argento. Si prepara mettendo in una fiala di 150 cc. qualche cristallo di nitrato di argento con 50-60 cc. di acqua distillata: quando i cristalli sono sciolti si riempie la fiala con soluzione di soda e si agita; si forma un precipitato nero di ossido d'argento che si lava ripetutamente con acqua distillata, per togliere il nitrato di soda e l'eccesso di soda. Allora sull'ossido di argento si versa una soluzione acquosa satura di turchino di metilene medicinale di Höchst.

La miscela si lascia a contatto 15 giorni, agitando ripetutamente.

Con la formola suddetta si fa, al momento di servirsene, la miscela colorante di eosina e turchino di Borrel. Vi si pongono per 20-30 minuti i preparati di sangue; si lavano in acqua, e poi per 10-15 minuti si pongono in soluzione di tannino al 5 ‰; si lavano di nuovo in acqua, si asciugano e si chiudono in balsamo.

Le emazie si colorano in rosa, i nuclei dei leucociti e dei parassiti in violetto e il protoplasma e la membrana dei parassiti in turchino più o meno pallido.

4. Colorazione con eosina e turchino di metile.

Soluz. acq. 1 ‰ di turchino di metile (Methylblau, Methylwasserblau) . . . . .	cc. 25
Soluzione acq. 1 ‰ di eosina . . . . .	» 35
Acqua distillata . . . . .	» 100

I preparati si fissano o con sublimato, o con liquido di Zenker o colla seguente soluzione di Mann:

Acido picrico . . . . .	gr.	1.0
Tannino . . . . .	»	2.0
Soluzione satura di sublimato con NaCl . . . . .	cc.	100

I preparati fissati si lasciano per 24 ore nel colore, quindi si lavano in acqua, si disidratano in alcool e dopo si mettono nella seguente soluzione:

Alcool assoluto . . . . .	cc.	50
Soluzione di lisciva di soda in alcool assolu- tuto all' 1 % . . . . .	gocce	4

In questo miscuglio le sezioni diventano rossastre, quindi si lavano rapidamente in alcool assoluto poi in acqua, quindi per altri 2 minuti in acqua leggermente acidulata con acido acetico, nella quale tendono a riprendere il colorito turchino.

e) *Colorazione tripla.* — Con questa colorazione si viene ad ottenere una differenziazione nucleare del parassita, e più propriamente una colorazione elettiva della cromatina differente da quella del corpo parasitario.

#### 1. Metodo Romanowski (1891).

Si usano i 2 colori di anilina, turchino di metilene ed eosina, in soluzione acquosa. Mescolando in determinate proporzioni i due liquidi si ha lo sviluppo di un terzo colore neutro detto colore della cromatina.

A) Soluz. acq. conc. di turchino di metilene (10 %).

B) Soluz. acq. di eosina (10 %).

Si prendono di A) due volumi dopo filtrazione e si mescolano a cinque volumi di B). La colorazione si ha in 2-3 ore.

Con questo metodo i globuli rossi si colorano in rosa, i nuclei dei leucociti in violetto-scuro, i parassiti in turchino, la cromatina in rosso-violetto o carminio. Vi è l'inconveniente che molto spesso si forma un abbondante precipitato che rovina i preparati, ed è perciò che lo stesso autore usò soluzioni meno concentrate (diluite a metà), però i risultati sono molto inconstanti, poichè molte volte si debbono variare le proporzioni dei due colori fondamentali per ottenere il terzo colore.

#### 2. Metodo Ziemann.

Fa duopo per una buona riuscita usare il turchino di metilene chimicamente puro e depurato di tutto il cloruro di zinco: (si prestano bene il turchino rettificato di Ehrlich o il turchino di metilene medicinale di Höchst) e l'eosina B-A A-G di Höchst. Le soluzioni si preparano nel seguente modo:

A) Turchino di metilene medicinale Höchst gr. 1

Acqua distillata bollente . . . . . » 100

Si tiene per 24 ore agitando di tanto in tanto e si filtra.

B) Eosina . . . . . gr. 1

Acqua distillata calda . . . . . » 100

Da questa poi si preparano soluzioni all'1 %.

Essendo il terzo colore, neutro, solubile in un eccesso di turchino di metilene e di eosina, è di grande necessità per la buona riuscita del preparato determinare il giusto rapporto del miscuglio, affinchè esso non si disciolga più. Si procede perciò nel seguente modo:

In sei vetrini concavi numerati si mettono due centimetri cubici della soluzione di turchino di metilene e successivamente l'eosina nelle seguenti proporzioni:

Nel primo vetrino 6 cm. c. nel secondo 8, e così di seguito 10, 12, 14, 16. Si mescolano ben bene i due liquidi e si mette in ciascuno di essi un preparato di sangue già fissato.

Si controlla il grado della colorazione ogni quarto d'ora ed il miscuglio che mostrerà la più bella colorazione violetto-carminio dei nuclei sarà quello che servirà di base per le colorazioni. Generalmente la proporzione è 2 di A con 8-14 di B.

Stabilito il rapporto tra i due liquidi si procede alla colorazione tenendo i preparati colla parte del sangue rivolta in giù a galleggiare nel miscuglio per 30-40'.

Si lava abbondantemente in acqua, si asciuga e si osserva in balsamo.

Questo metodo, che ha segnato un grande progresso nella tecnica della colorazione dei parassiti della malaria, è stato oggetto di numerose ricerche da parte di molti osservatori, che vi hanno portato delle modifiche allo scopo di rendere più costante e sicura la colorazione della cromatina.

Zettnow ha proposto di alcalinizzare la soluzione di turchino di metilene con la soda, Berestneff col carbonato sodico, Lavéran coll'ossido d'argento, altri col borace; e sempre allo scopo di migliorare la nitidezza dell'immagine; gli stessi A. han proposto dei liquidi decoloranti per estrarre il turchino di metilene dall'emoglobina.

Importanti sono le ricerche del Nocht sulla natura del terzo colore neutro, che è dovuto al rosso del turchino di metilene, e che si può estrarre da una soluzione per mezzo del cloroformio (questo si colora in rosso). Gli alcali, il calore e l'età della soluzione agevolano la produzione di questo terzo colore.

### 3. Metodo Romanowski-Ziemann modificato.

Ecco le modificazioni apportate ai suddetti metodi nell'Istituto d'igiene (La Branca): esse costantemente danno buoni risultati.

#### 1° Preparazione dei liquidi.

A) soluz. di turchino di metilene medicinale Höchst. Si adoperano soluzioni molto diluite per lo più all'1  $\frac{0}{10}$ , che si rendono alcaline con carbonato potassico secondo la formola:

Turchino di metilene . . . . .	gr.	1
Acqua distillata . . . . .	»	100
Carbonato potassico . . . . .	»	0,50

È preferibile il carbonato potassico al sodico perchè dà più viva colorazione della cromatina.

Si tiene la soluzione in bagnomaria a temperatura di 60 c. per qualche ora. Il liquido assumerà una colorazione viola. Le soluzioni di qualche settimana danno migliori risultati.

## B) Soluz. di eosina B. Hochst :

Eosina . . . . .	egr. 10
Acqua distillata . . . . .	» 100

2° Determinazione del rapporto quantitativo tra le soluzioni di turchino di metilene e di eosina.

Anzi che procedere per tentativi si procede nel seguente modo :

Si diluisce un emc. della soluzione di turchino di metilene in 10-20 emc. di acqua distillata in una comune capsula di Petri; da una buretta graduata, contenente la soluzione di eosina, si fa cadere questa a gocce, agitando di frequente, per ottenere la mescolanza dei due colori fino a che compare un precipitato in forma di finissima polvere nera.

Il numero dei emc. di eosina adoperati rappresenta la quantità che si deve mescolare con 1 emc. di turchino di metilene affinché si abbia il terzo colore.

Però allo scopo di evitare eccessivo precipitato è meglio prendere un poco meno di eosina.

Questo metodo oltre il vantaggio della rapidità ha quello di potersi applicare a tutte le soluzioni di cui non si conosce il titolo.

È utile stabilire spesso i rapporti tra le due soluzioni, variando esse molto a seconda della temperatura e dell'età della soluzione di turchino di metilene.

## 3° Colorazione.

I preparati fissati in alcool assoluto ed essiccati si pongono nella vaschetta da colorazione, o in vetri concavi, col lato ove è disteso il sangue in giù, a contatto del liquido colorante.

In un mortaio di vetro si versa la soluzione di turchino di metilene ed eosina secondo le proporzioni stabilite; si rimescola ben bene e si versa il miscuglio nelle vaschette.

Può anche diluirsi questo miscuglio in 5-10 volte il volume di acqua senza che i risultati ne siano variati, anzi si ottengono colorazioni più nitide.

I preparati si tengono per 30'-60'; talora se si vuole abbreviare questo tempo basta un leggerissimo riscaldamento senza che si manifestino vapori.

Si lavano abbondantemente in acqua.

Si passano per alcuni secondi in una soluzione di acido cloridrico ad  $\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{2}$   $\frac{0}{3}$ , o per pochi secondi nel seguente liquido differenziale (Zettnow) :

Soluz. acq. di turchino di metilene $\frac{1}{2}$ % emc 100
Acido acetico $\frac{1}{4}$ di emc.

Si lava di nuovo, indi si fa un rapido passaggio in alcool assoluto (2"-10") poi, dopo avere asciugato, in xilolo, e si osserva in balsamo.

Si hanno preparati nitidi e senza supercolorazione massimamente se si diluisce la miscela colorante.

I globuli rossi si presentano in rosa pallido, i nuclei dei leucociti in viola, e i parassiti assumono una tinta leggermente azzurra con la cromatina in rosso carminio.

## 6. Metodo Leishmann.

A) Turchino di metilene . . . . .	gr. 1
Acqua distillata . . . . .	» 100
Carbonato sodico . . . . .	» 0,50
B) Eosina B. Grubler . . . . .	gr. 0,1
Acqua distillata . . . . .	» 100

In un vetrino si pone una goccia di *A*) che si diluisce in 25 gocce di acqua distillata.

In un secondo vetrino si pone una goccia di *B*) che si diluisce in 25 gocce di acqua distillata.

In un terzo vetrino si mette il preparato di sangue fissato e su di esso si versano contemporaneamente le diluizioni di *A* e *B*, si agita per fare avvenire il miscuglio e dopo mezz'ora si estrae il preparato e si osserva in acqua. Se molto colorato si lava in acqua o per 1-2' in alcool assoluto.

## 5. Metodo Nocht.

*A*) Turchino di metilene policromo Unna (Grubler).

Questo liquido è alcalino per cui bisogna neutralizzarlo con acido acetico.

*B*) Soluz. acq. conc. di turchino di metilene.

*C*) Soluz. di eosina 1  $\frac{0}{10}$ .

Per ottenere la colorazione si procede nel modo seguente:

Si prende 1 cmc della soluzione *A*) neutralizzata, che è di colore viola e si mescola con 1 cmc. di acqua distillata, indi si aggiunge a goccia la soluzione *B* fino a che il liquido prende un colore turchino scuro.

In un altro vetrino si mettono 3-4 gocce di *C* diluite in 2-3 cmc. di acqua.

Vi si fanno cadere delle gocce della miscela delle due soluzioni di turchino di metilene fino a che il liquido non acquisti colorito turchino scuro.

In questo miscuglio si mettono a colorire i preparati per 24 ore.

## 6. Metodo La Branca-Leishmann.

Per una colorazione rapida dei parassiti con risultato di poco diverso dai precedenti metodi può usarsi quello proposto dal Leishmann e che salvo lievi differenze si usava già prima nel nostro Istituto:

<i>A</i> ) Carbonato potassico . . . . .	gr. 0,50
Acqua distillata . . . . .	» 100
Turchino di metilene medicinale . . . . .	» 1

Si tiene a bagnomaria in 60-65° per qualche ora.

*B*) Eosina *B* soluz. acq. 1  $\frac{0}{100}$ .

Dopo qualche giorno dalla preparazione si mescolano i due liquidi a parti uguali in un recipiente a collo largo che si agita spesso (Leishmann).

Si ottiene così un precipitato sotto forma di polvere finissima. La quantità di eosina necessaria per avere il precipitato deve, in certi casi, essere assai maggiore di quella proposta dal Leishmann (1 volume di turchino di metilene e 2 o 3 di eosina).

Dopo 12-24 ore si filtra il miscuglio e il precipitato, lavato ben bene con acqua distillata, si lascia seccare sul filtro stesso.

Da questo precipitato si prepara il liquido colorante in soluzione alcoolica preferendo l'alcool metilico, nella proporzione seguente:

Precipitato . . . . .	gr.	0,30-0,50
Alcool metilico . . . . .	»	100

Per la colorazione si procede nel seguente modo:

Si distende il sangue sui vetrini col noto metodo dello strisciamento e si lascia asciugare all'aria.

Si ricopre il preparato con 6-8 gocce della soluzione alcoolica che si lascia agire per 5-10 minuti.

Si aggiunge sul vetrino dell'acqua distillata in abbondanza oppure si mette il preparato direttamente in capsula contenente dell'acqua.

Dopo 5 minuti si lava abbondantemente fino a che il preparato assuma una tinta rossastra.

Si chiude in balsamo.

Talora sul vetrino si deposita il precipitato, specialmente quando si lascia agire il liquido per molto tempo e si evapora l'alcool, ciò che rovina i preparati; in tali casi si toglie il precipitato con un rapido passaggio in alcool assoluto o meglio con olio di garofano, che ha il vantaggio di rischiarare i preparati.

Spesso i globuli rossi hanno una tinta non decisamente rosa specialmente quando l'acqua non ha agito per un tempo sufficiente.

I vantaggi di questo metodo sono moltissimi:

1° si ottiene una colorazione simile a quella che col miscuglio Romanowski;

2° è rapida la colorazione poichè essendo il liquido colorante in soluzione alcoolica non vi è necessità di fissare i preparati;

3° si usa un liquido unico;

4° è facile la tecnica.

#### COLTURE.

a) *Su terreni morti.* — Riescono solo per le amebe abituate a vita saprofitica, e per i micetozoi.

Secondo le mie ricerche il *fucus crispus* è il terreno di coltura più adatto per ottenere colture pure di una data specie di amebe, ma non pure nel senso batteriologico, in quanto che le amebe sono inseparabili da varie specie di batteri che sono il loro nutrimento essenziale.

Per tale scopo colturale il fucus si prepara come l'agar-agar: s'ottiene così una poltiglia gelatinosa, sulla quale si coltivano benissimo per successive generazioni le amebe, specialmente saprofitiche.

b) *Su terreni viventi:*

1° *Cornea.* — Il Gnamieri ha scelto questo terreno di coltura pel pus vaccinico e vajuoloso: si può assistere così ad alterazioni patologiche che si osservano ad occhio nudo, e con tagli microscopici si possono seguire le alterazioni endocellulari.

2° *Peritoneo*. — Furono usate, per seguire lo sviluppo dei tripanosomi, le inoculazioni di sangue nel peritoneo di animali suscettibili o no all'infezione. Si possono così ora per ora, giorno per giorno, seguire alcune fasi di sviluppo.

3° *Canal digerente di animali succhiatori*. — Per seguire lo sviluppo degli emosporidi si è fatto succhiare il sangue a sanguisughe: i globuli e i parassiti si conservano a lungo; ma ulteriori fasi di sviluppo non si osservano che negli insetti capaci di funzionare da ospiti intermedi o definitivi.

#### INOCULAZIONI.

Il più spesso si fanno per le vie sottocutanea, endoperitoneale ed endovenosa. Unicamente così può studiarsi lo sviluppo e l'azione patogena degli ematozoari, come tripanosomi ed emosporidi, inoculando cioè il sangue infetto ad animale suscettibile, p. e. il sangue malarico da uomo a uomo. Ciò che può farsi essendo la malaria una malattia che prontamente si diagnostica con l'esame del sangue e prontamente si guarisce col rimedio specifico. Non essendo la malaria dell'uomo inoculabile ad altri animali, una buona parte del problema sperimentale della malaria si dovette per necessità risolvere mediante inoculazioni di sangue da uomo a uomo.

#### PARTE SPECIALE.

Scelgo fra le molte la seguente classificazione, che senza avere alcuna pretesa di essere esatta e definitiva, può avere per ora uno scopo didattico:

Stipite: Protozoi.

I. Sottostipite, *Plasmodromi*.

Classe I: Rizopodi.

Classe II: Mastigofori,

Classe III: Sporozoi.

II. Sottostipite: *Cigliofori*.

Classe IV: Cigliati.

Classe V: Suetori.

I plasmodromi hanno la caratteristica di muoversi con pseudopodi o con flagelli, i cigliofori con le ciglia.

I plasmodromi si suddividono in 3 classi secondo che, nella vita adulta, si muovono con pseudopodi radiceiformi (rizopodi), o con flagelli (mastigofori), ovvero mancano degli uni e degli altri organoidi, e si riproducono per mezzo di corpuscoli sporiformi (sporozoi).

A lor volta i cigliofori si suddividono in 2 sottoclassi, secondo che hanno le ciglia alla superficie di tutto il corpo e per tutta la vita (cigliati), ovvero a preferenza in un punto del corpo e durante il periodo della loro vita giovanile, o in circostanze speciali (suetorii).

La classe dei RIZOPODI si può suddividere in vari ordini; a noi c'è interessano:

I ordine: *Micetozoi*;

II ordine: *Amebe*.

### Micetozoi.

Come indica il nome, i micetozoi sono degli esseri enigmatici che stanno fra il mondo animale e quello vegetale. Il loro ciclo di sviluppo non è interamente noto, e quindi anche la posizione sistematica fra i rizopodi non è definitiva.

Un esempio tipico di parasitismo endocellulare da micetozoi fu illustrato dal Woronin nei tumori delle radici della *Brassica Rapa* (fig. 70). Questi tumori sono costituiti (fig. 71) dalle pareti

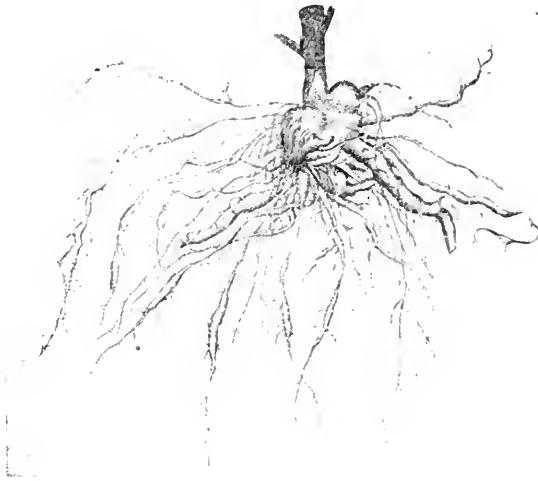


fig. 70 (da Doflein).

delle cellule vegetali ripiene di micetozoi, rappresentati o da amebe libere (fig. 71-*a*), o riunite insieme a mo' di plasmodi propriamente detti, cioè di colonie di cellule fra loro fuse (fig. 71-*b, c*), ovvero da accumoli di spore (fig. 71-*d, e, f*), che, rompendosi la membrana parietale, diventano libere, e cadendo sul terreno umido vegetano e si sviluppano in tante forme mixoflagellate, che entrano in nuove radici e propagano il contagio.

La profilassi perciò di questa malattia consiste nel distruggere le radici delle piante, dopo il raccolto, nello scartare dalle nuove



colture le piante ammalate, e nell'avvicendare almeno per un anno con qualche altra coltura il terreno già infetto.

Ho riportato questo esempio di parasitismo endocellulare della



fig. 71 (da Doëlein).

*Plasmodiophora brassicae*, perchè fu il primo studiato, e ci ha servito per sostenere, con argomento di analogia, il parasitismo endoglobulare della malaria, quando nessuno prestava fede alle nostre ricerche su questa infezione: anche il nome di plasmodi della malaria venne ispirato da questo caso tipico di malattia parasitaria endocellulare.

### Amebe.

Hanno per molto tempo occupato l'attenzione dei naturalisti e dei medici. Non è ancora certo se siano esseri a sè, o invece rappresentino uno stadio nella vita di altri esseri appartenenti al mondo dei protozoi.

Sono corpi unicellulari che nel 1° periodo della loro vita mancano di membrana: hanno protoplasma in parte granuloso, in parte jalino, e uno o più nuclei: sono dotati di un movimento a pseudo-podi, che appunto da loro è stato detto ameboide

Nelle colture al fucio erispo (v. pag. 166) si possono seguire le varie fasi di sviluppo, cioè la fase ameboide, la fase di riposo, la fase cistica, e quella di riproduzione.

Di quest'ultima conosciamo bene finora il ciclo asessuale (v. figura 72).

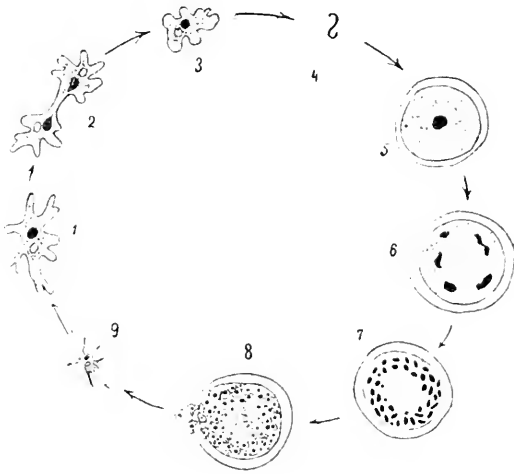


fig. 72 (da Doflein).

Ciòè un'ameba si divide in due, ciascuna di queste in altre due, e così via (fig. 72, 1-3). Questa divisione può esser diretta od anche mitotica.

Oltre a questa riproduzione scissipara, ve ne ha un'altra per spore (fig. 72, 5-9), che sembra sia preceduta dalla coniugazione.

Non è accertato ancora se la coniugazione avvenga per isogamia o per eterogamia, cioè fra macro e microgameti.

Ad ogni modo si vedono delle amebe trasformarsi in cisti con una più o meno spessa membrana: la sostanza nucleare si frammenta in più nuclei, la cisti si riempie di tante piccole spore, quanti sono i giovani nuclei; e appena le nuove generazioni di amebe sono mature, la cisti si rompe e le giovani amebe escono, libere, per ricominciare un nuovo ciclo di sviluppo.

Le amebe in vita soprofitica sono assai diffuse in tutto l'ambiente, p. es. nelle acque ordinarie e termali, nel terreno, a diverse altitudini, e in generale in località umide.

Con le colture nel suddetto fuco crispo ho potuto coltivare e isolare le seguenti specie, viventi saprofiticamente :

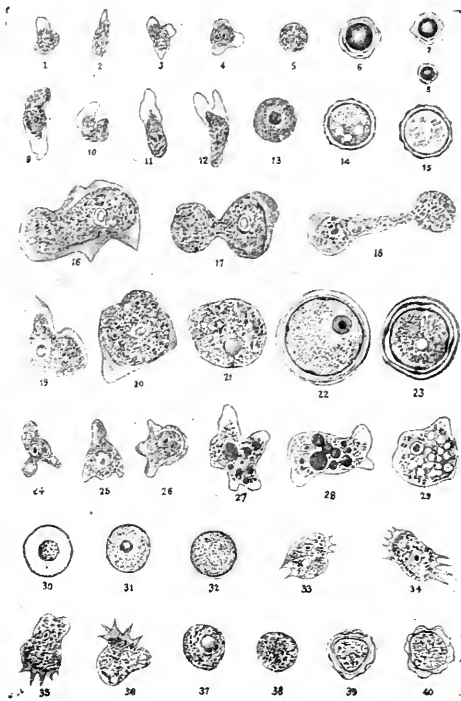


fig. 73.

- Amoeba guttula (fig. 73, 1-8)
- » lobosa (fig. 73, 9-15)
- » undulans (fig. 73, 16-23)
- » coli o colisimilis (fig. 73, 24-32)
- » spinosa (fig. 73, 33-40)
- » diaphana (fig. 74, 41-48)
- » vermicularis (fig. 74, 49-55)
- » reticularis (fig. 74, 56-59)
- » arborescens (fig. 74, 60-27)

Di ognuna si vede l'ecto ed entoplasma e talvolta il nucleo anche a fresco: si vedono poi le varie fasi, ameboide, rotonda o di riposo e cistica. Talora si vedono anche vacuoli digestivi e contrattili.

La diagnosi differenziale non è difficile se si tien conto della morfologia, nelle diverse fasi di sviluppo, e in ispecie in quella ameboide e cistica.

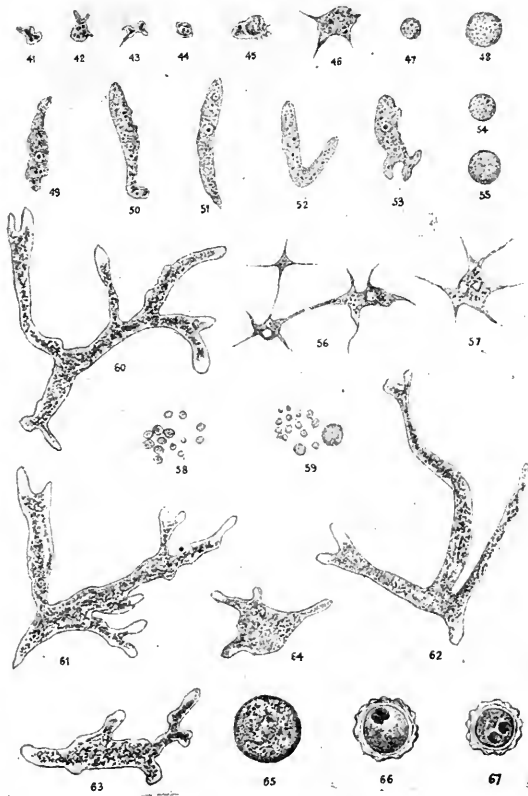


fig. 74.

Nelle due varie fasi, ameboide e cistica, è pure varia la

TAB. 6 *Resistenza delle amebe agli agenti fisico-chimici.*

	Fase ameboide	Fase cistica
temperatura	45° per 5 ore	60° per 1 ora
»	50° per 1 ora	67° »
luce	—	270 ore
disseccamento	—	11-15 mesi
putrefazione	23 giorni	33 giorni

*Azione patogena (?) delle amebe.*

Questi protozoi si trovano spesso dentro il nostro organismo: ne furono trovati nel laringe, nella bocca, nell'apparato urogenitale; ma il loro luogo di predilezione è il canale digerente, in specie l'intestino, ove trovano un ambiente alcalino, il più adatto per essi. Con mie ricerche colturali trovai la seguente

TAB. 7. *Distribuzione delle amebe nell' intestino.*

Intestino di bambini	Reperto colturale	
	positivo	negativo
bambini sani . . . . .	2	12
catarro intestinale . . . . .	20	30
diarrea verde . . . . .	3	2
diarrea sanguinolenta . . . . .	0	6
enterite follicolare . . . . .	1	2
	<hr/>	<hr/>
	26	52
	<hr/>	<hr/>
Intestino di adulti		
individui sani . . . . .	1	17
catarro intestinale . . . . .	0	4
tubercolosi intestinale . . . . .	0	5
diabete . . . . .	0	1
tifoide . . . . .	0	2
colera nostrale . . . . .	0	1
» asiatico . . . . .	0	14
proctite catarrale . . . . .	0	1
dissenteria . . . . .	11	54
	<hr/>	<hr/>
	12	99
	<hr/>	<hr/>

Si vede quindi come le amebe siano più frequenti nell'intestino dei bambini anzichè in quello degli adulti, nel quale un po' più frequentemente, ma non sempre, si trovano con le colture nei casi della dissenteria.

In quest'ultima infezione anche il reperto microscopico dell'ameba coli è tutt'altro che costante: in 54 casi l'ho trovato 23 volte soltanto.

Manca quindi la 1<sup>a</sup> condizione essenziale per riconoscere questo protozoo come la causa unica della dissenteria. L'ameba coli è stata rinvenuta anche nelle dejezioni di persone sane: se n'è

distinta perciò una varietà patogena e una non patogena. Lo Schaudinn anzi ritiene si tratti non solo di due specie ma a dirittura di due generi differenti; la 1<sup>a</sup> starebbe, come semplice commensale, nell'intestino sano o malato (*amoeba s. entamoeba coli*), la 2<sup>a</sup> sarebbe capace di distruggere i tessuti della mucosa intestinale nella dissenteria (*entamoeba histolytica*).

Le caratteristiche differenziali sarebbero le seguenti:

*Entamoeba coli*: ectoplasma jalino, poco rifrangente e scarso; grosso nucleo rifrangente; stadio duraturo cistico (73, 24-32): la cisti sono rotonde, o, meno frequentemente, ovoidali, di grandezza variabile intorno a una media di 15-20  $\mu$ ., con pareti a doppio contorno, e un contenuto protoplasmatico granuloso, mono o polinucleare (8 nuclei).

*Entamoeba histolytica*: ectoplasma jalino (v. fig. 75) molto netto e rifrangente; nucleo poco rifrangente, spesso invisibile a

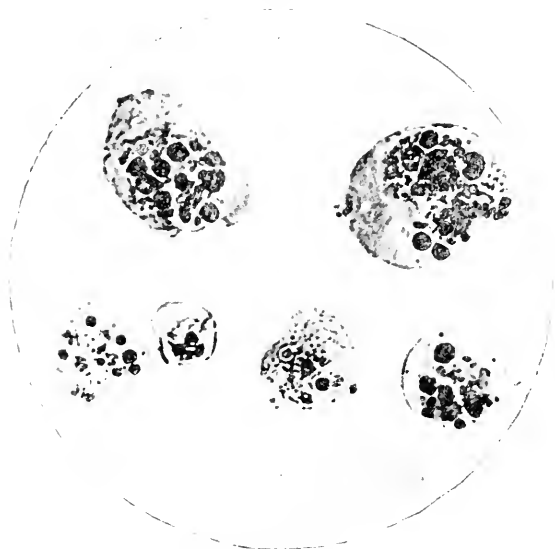


fig. 75.

fresco, e visibile con la colorazione come un piccolo corpuscolo, con poca cromatina ed eccentrico; stadio duraturo non cistico, ma in forma di piccole spore che diventano libere.

La fig. 75 ci mostra l'ameba stessa nelle sue fasi ameboidi e di riposo, nelle feci dissenteriche.

La prima ameba si riprodurrebbe per scissione o per schizogonia, nonchè in seguito a copulazione; la seconda si riprodur-

rebbe per scissione e gemmazione; entrambi si rinvencono nelle deiezioni dissenteriche, ove si trovano in ambiente adatto per nutrirsi e moltiplicarsi; e in vero si nutrono a spese dei globuli rossi del sangue delle feci: se ne vedono così di quelle che ne hanno inglobato perfino 8-10 (v. figure 73 e 75).

S'è detto, ed è vero, che inoculando nei giovani gatti le deiezioni dissenteriche si può riprodurre la dissenteria con le amebe; ma nelle deiezioni inoculate oltre l'amebe vi è una quantità di batteri eventualmente patogeni; e colture di amebe, prive di batteri, non è finora possibile ottenerle. Quindi l'esperimento negli animali non è probativo come quando si fa con le colture pure di un dato germe. Si è detto eziandio che coi suoi vicaci pseudopodi l'entoameba istolitica penetrerebbe fra le cellule della parete intestinale e così le distruggerebbe; ma nessuno ha potuto escludere i batteri e i loro prodotti tossici in quest'azione patogena ulcerativa.

Si è riprodotta la dissenteria nei gattini inoculando anche il pus di ascesso epatico postdissenterico e sterile su colture in agar. Ma il pus certe volte è sterile in alcuni terreni di coltura e in altri no; e nessuno può sostenere che il pus sia un semplice substrato di coltura e non invece un prodotto per sè patogeno.

Non abbiamo quindi finora esperienze decisive in favore della eziologia amebica della dissenteria, la quale del resto ormai sappiamo essere prodotta da batteri (v. Batteriologia speciale).

Alcuni però ritengono ancora che la dissenteria tropicale sia prodotta da amebe; ma in Egitto, nel Giappone, a Cuba, ecc. si è trovato ugualmente che in Europa il bacillo dissenterico.

Si è voluto anche distinguere con l'anatomia patologica una dissenteria ulcerosa da amebe ed una dissenteria differica da batteri; ma nessuno può disconoscere l'azione patogena dei batteri specifici.

Altri sostengono che le amebe siano il veicolo dei batteri, mentre invece è più probabile esercitino su di essi un'azione fagocitaria; ed altri infine ammettono che le amebe tengano aperte le ulcere dissenteriche, mentre i piogeni, gli stessi bacilli coli e colidissenterici anche coi loro prodotti tossici sono già più che sufficienti per esercitare quest'azione ulcerativa.

\*  
\* \*

Anche ad altri esseri ameboidi si è attribuito potere patogeno. Il Leyden ha indicato, senza però dimostrarlo, come causa del canero un'ameba. Ed anche nell'escreato della fosca convulsa, nel

sangue dei morbillosi o dei sifilitici, nei casi di leucemia e pseudo-leucemia si sono indicate delle amebe. La causa però di tutte queste malattie è ancora oscura. Cosicchè possiamo dire che finora non conosciamo alcuna ameba certamente patogena.

\*  
\* \*

Fra i protozoi della classe dei MASTIGOFORI ve ne hanno senza dubbio dei patogeni nella sottoclasse dei flagellati, e più in ispecie nella famiglia dei

### Tripanosomidi.

Di questa famiglia è per noi interessante il genere *tripanosoma* caratterizzato da un corpo protoplasmatico affilato, che nel movimento prende la figura come di un trapano (onde il nome); cioè la membrana cellulare da un lato è vivacemente ondulante, e termina con un flagello caudale (fig. 76, A, B).

La moltiplicazione finora conosciuta è quella asessuale, ed

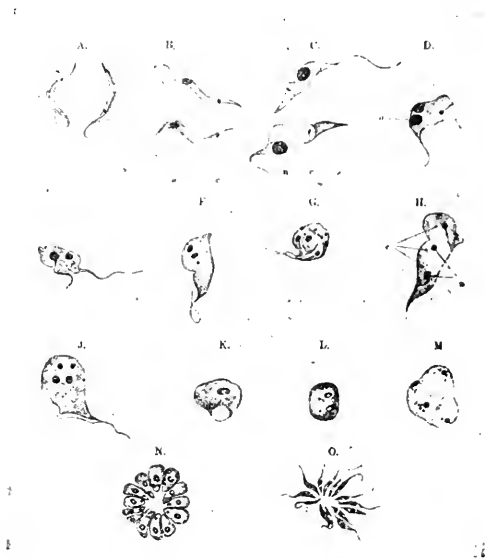


fig. 76 (da Doflein).

avviene come nella fig. 76, che dimostra i vari modi della riproduzione monogamica del tripanosoma dei ratti, finora il meglio



studiato, cioè la riproduzione per scissione o longitudinale (*C — G*), o trasversale (*H*) o a rosetta (*N — O*).

La *tripanosomiasi* si manifesta come una malattia caratterizzata nei mammiferi più grossi (bovini, equini, ecc.) da una distruzione di emazie, onde anemia acuta o subacuta, che, trattandosi di un parasitismo estraglobulare del sangue, si può spiegare ammettendo che i tripanosomi producano una emolisina, ovvero sottraggano elementi nutritivi ai globuli rossi.

Si ha inoltre tumor di milza, e non di rado si manifestano lesioni emorragiche locali della pelle o degli organi genitali.

La febbre nell'infezione acuta non manca ed è continua o intermittente o remittente e come ricorrente.

Questa malattia in alcune delle sue forme si propaga di certo per opera di insetti succhiatori del sangue: non conosciamo però ancora per quale meccanismo intimo ciò avvenga.

Con le successive inoculazioni di sangue dei ratti infetti da *tripanosoma lewisi* a ratti sani si può mettere in evidenza un principio di agglutinazione.

I sieri specifici che si possono così ottenere sono sempre agglutinanti, raramente paralizzanti del movimento dei tripanosomi, e non mai microbicidi.

Un ratto guarito di una prima infezione non ne contrae una seconda. I sieri specifici che si ottengono con la immunizzazione attiva, mediante successive e progressive inoculazioni di sangue infetto, spiegano azione preventiva solo contemporanea all'innesto: l'azione loro curativa è sempre limitata ed incerta. Il meccanismo di questa parziale immunità sembra sia di ordine cellulare o leucocitario, anzichè umorale.

Non producendosi tossine, non si può parlare neppure di anti-tossine.

Dei vari tripanosomi finora trovati nel sangue degli animali, per noi il più interessante, perchè si è ritrovato nell'uomo, è il

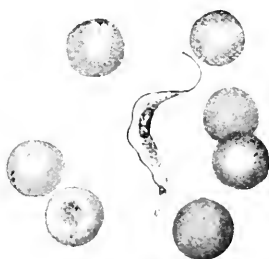
### **Tripanosoma gambiense.**

Fu rinvenuto da Everett Dutton in un uomo, che era stato del tempo sulle rive del Gambia (Africa inglese o del Capo). I sintomi che l'infermo presentava erano:

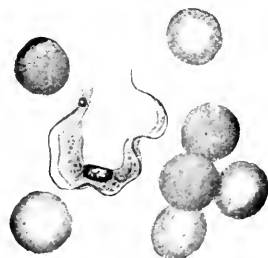
Debolezza e denutrizione generale, più molesta alle gambe; febbre intermittente a tipo irregolare; cioè temp. non molto alta per 1-4 giorni con remissioni mattutine, e apiressia per 2-5 giorni con temp. normale o subnormale; edema specialmente delle pal-

pebre; iperemia della pelle e talora della congiuntiva; tumore splenico; frequenza del respiro e del polso.

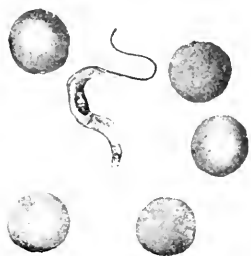
Durante la febbre, non durante l'apiressia, si vede nel sangue periferico circolare il *trypanosoma gambiense* (fig. 77) ch'è lungo



*Trypanosoma lewisi.*



*Trypanosoma brucei.*



*Trypanosoma equiperdum.*



*Trypanosoma gambiense.*

fig. 77.

(compreso il flagello) 18-25  $\mu$ ; esso è più corto che quello *lewisi* (24-30  $\mu$ ), di quello *brucei* (26-28  $\mu$ ) e di quello *equiperdum* (25-28  $\mu$ ). La larghezza va da 2  $\mu$  a 2,8  $\mu$ .

Differisce dal *brucei* anche per la lunghezza del flagello e per lo scarso numero di granuli di cromatina: nel protoplasma con la colorazione doppia si osserva il macronucleo nel mezzo del corpo; il polo acuto contiene il micronucleo da cui parte il filamento di cromatina che va lungo la membrana e termina a flagello ondulante.

Non è però ancora definitivamente distinto dagli altri trypanosomi patogeni per gli animali.

È interessante che si sia trovato questo caso certo di trypanosoma nell'uomo, in cui già il Nipveu n'aveva segnalati, sin

dal 1888, 6 casi nell'Algeria (5 in persone contemporaneamente affette da malaria, uno in un individuo apparentemente sano) senza però darne una descrizione precisa.

Altri tre casi di tripanosomiasi nell'uomo furono ultimamente descritti nel Congo. La malattia si era sviluppata dopo la puntura di insetti (in un caso fu identificato *l'argas moubata*), e si manifestava con anemia e febbre a tipo ricorrente, una volta anche a tipo continuo. Sicchè per questa malattia le mosche succhiatrici di sangue avrebbero la stessa importanza che le zecche per la malaria bovina e le zanzare per la malaria degli uccelli e dell'uomo. Analogamente la tripanosomiasi è trasmessa nei ratti dalle pulci, nei grossi mammiferi dalla mosca tse-tse o *glossina morsitans*.

Recentemente nella cosiddetta malattia del sonno il Castellani ha trovato, in 70 % dei casi, un tripanosoma che somiglia molto, ma non pare identico al gambiense.

Oltre il genere *Trypanosoma* si è trovato, finora solo nei pesci, un altro genere, chiamato *Trypanoplasma*, che si caratterizza perchè la membrana ondulante termina con un flagello non solo indietro ma anche d'innanzi, e verso il mezzo del corpo passa attraverso la massa d'un centrosoma, grosso quanto il nucleo.

\*  
\* \*

Fra gli altri protozoi, appartenenti ai mastigofori, non ne abbiamo altri che siano patogeni veri e propri.

Il gen. *Cercomonas* — senza membrana ondulante — fu indicato come parassitario dal Dujardin fino dal 1° terzo del secolo scorso; e poi trovato nella gangrena polmonale, e nella pleurite putrida, senza però ch'abbia alcuna azione causale su questa malattia.

Il gen. *Trichomonas* — caratteristico per 3-4 flagelli e una membrana ondulante — ha 2 specie:

a) *Trichomonas vaginalis* di Donnè, vive nella vagina della donna, nei

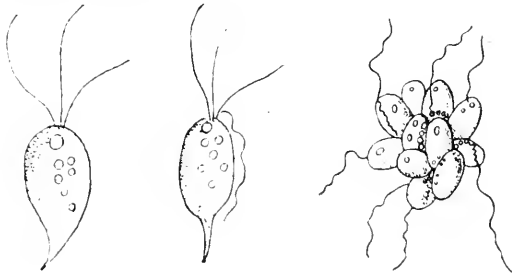


fig. 78 (da Dollein).

catarrhi di reazione acida; muore in ambiente alcalino: si è trovato solo nel 30-40 % dei casi esaminati, e non è patogeno;

b) *Trichomonas hominis* di Davaine (fig. 78), si distingue dal precedente per essere più piccolo, e perchè vive solo in ambiente alcalino; perciò si è rinvenuto nell'intestino di adulti e bambini, sani e malati delle più diverse malattie intestinali.

Non si trova mai nelle diarree dei lattanti. Non si conosce con sicurezza la forma delle cisti in vita libera. Manca di qualsiasi azione patogena. Forme analoghe o identiche si rinvennero nella cangrena polmonare e in essudati pleurici.

Il gen. *Lamblia* o *megastoma* è caratteristico per avere un corpo simmetrico, bilaterale, e all'estremità anteriore un paio di flagelli, nel mezzo due paia di flagelli, e nell'estremità posteriore ancora un altro paio di flagelli, in tutto

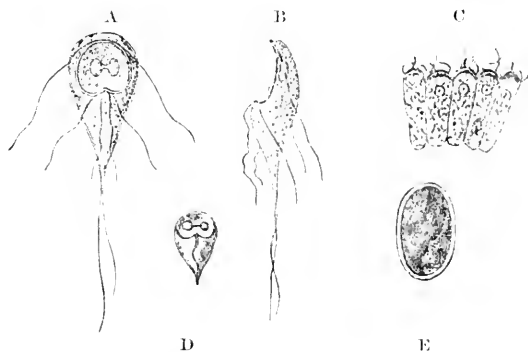


fig. 79 (in parte da Doflein).

8 flagelli; nella parte anteriore ha una concavità (fig. 79, *A*, *B*.) simile ad una ventosa per cui aderisce alle cellule intestinali.

La fig. 79 mostra appunto la lamblia o il megastoma intestinale, libero (*A*, *B*), o aderente (*C*) cellule intestinali.

Nella fase di riposo (*D*) presenta una figura piriforme, e nella fase cistica (*E*) si presenta in forma di corpi ovali, brillanti, lunghi 8-10  $\mu$ , larghi 8-9  $\mu$ , con membrana molto refrangente che lascia intravedere nell'interno un contenuto cellulare che ricorda la forma del megastoma col relativo processo caudale ripiegato sul corpo.

Nei casi osservati nell'uomo si avea stitichezza alternata a diarrea profusa; ma simili disturbi intestinali si possono anche avere indipendentemente da questo protozoo, che perciò non è certo abbia una decisiva azione patogena anche quando è aderente in gran numero alle cellule nel duodeno e nel digiuno. Nel crasso si vedono solo le cisti.

### Sporozoi.

Sono parassiti, per lo più, endocellulari; in uno stadio di vita sono ameboidi. Si riproducono non per scissione, ma per spore, e il più spesso per generazione alternante, asessuale e sessuale. Per

quanto a noi più interessa possiamo suddividerli in due ordini: *Coccidiophormia*, e *Gregarinida*. I primi si possono suddividerli in sottordini, 2 de' quali c'interessano: I. *Coccidia*; II. *Haemosporidia*.

### Coccidi.

Sono protozoi rotondeggianti, con protoplasma granuloso, non differenziabile in ecto- ed entoplasma, con nucleo vescicolare, con

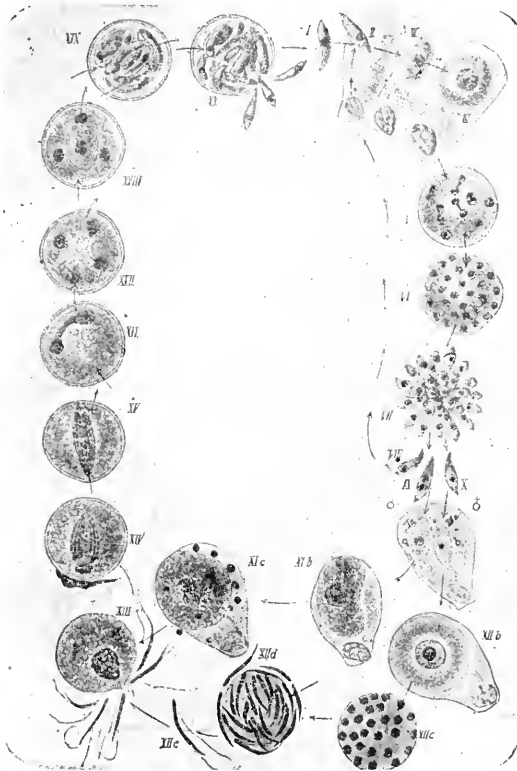


fig. 80 (da Doflein).

nucleolo o cariosoma, senza vacuoli contrattili, senza granukazioni nutritive di riserva, giacchè vivendo nell'interno di cellule si nutrono per osmosi a spese di queste.

Si riproducono asessualmente e sessualmente, mediante un dimorfismo evolutivo, scoperto da R. Pfeiffer e completato poi da

Schaudinn, Simond, Siedlecki ed altri. Cioè in questo gruppo di esseri si succedono, nella loro evoluzione, 2 cicli, uno endogeno in un primo ospite, con moltiplicazione di germi, che producono l'autoinfezione; l'altro, ch'è preceduto da fenomeni sessuali, genera individui incistati, resistenti, e capaci di abbandonare il 1° ospite, per trasportare in un 2° l'infezione.

Di questi cicli di sviluppo dei coccidi abbiamo, secondo Schaudinn, 2 tipi. Nel 1° tipo (fig. 80) si vede in I il nuovo germe libero, in II mentre penetra in una cellula epiteliale, in cui il nucleo si sposta alla periferia mentre il protozoo si sviluppa e cresce (III e IV): in V si inizia, con la proliferazione del nucleo, la moltiplicazione asessuale, che continua e si compie nelle fig. VI e VII, in forma di rosetta: uno dei corpicciuoli figli (VIII) ricomincia l'autoinfezione penetrando in nuove cellule sane dello stesso ospite; altri 2 corpicciuoli figli (IX e X) cambiando ospite si differenziano sessualmente in 2 serie di corpi gli uni femminili (XI *a, b, c*) gli altri



fig. 81 (da Schaudinn).

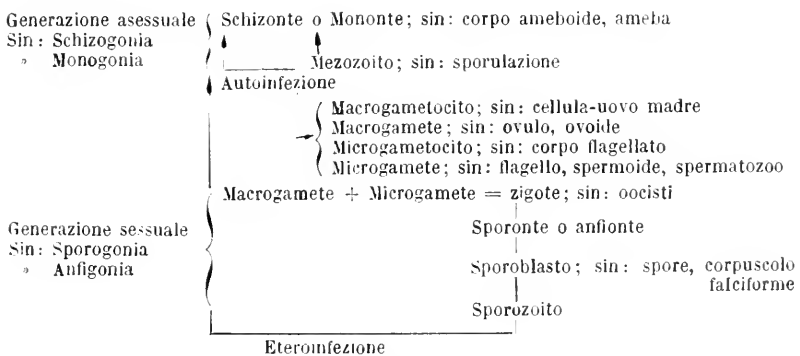
maschili (XII *a, b, c, d*); la fig XI *c* è la cellula uovo che sta avviandosi al suo completo sviluppo; la fig. XII *d* è la cellula maschile piena di spermatozoi; uno di questi si vede libero nella fig. XII *e*.

La fig. XIII mostra la fecondazione; varii spermatozoi si dispongono attorno alla cellula per fecondarla: uno solo però entra, e appena entrato, la cellula femminile si ricuopre di una membrana. Successivamente si vedono la proliferazione nucleare (XV-XVIII) e la formazione di tanti corpuscoli anticamente detti faleiformi (XIX), i quali, rompendosi la cisti, si fanno liberi (XX) e uno di essi ricomincia nel 1° ospite la nuova infezione endocellulare.

Nel 2° tipo (fig. 81) il ciclo asessuale è duplice, si ha cioè una serie di elementi maschili (I-VII *a*) che arrivando a moltiplicarsi riproducono nello stesso ospite la rispettiva infezione; così fanno, per loro verso, gli elementi femminili (I-VII); mentre corpiccioli figli, della riproduzione asessuale, rispettivamente maschili (VIII-XI *a*) e femminili (VII-XI), diventano sempre più sessualmente differenziati, per arrivare poi alla fecondazione (XII) e poi alla proliferazione nucleare e alla definitiva produzione di corpuscoli faleiformi o sporozoiti (XIII-XVI).

Siccome i vari autori per indicare le diverse fasi addottano nomi differenti, così è anche utile rappresentare come in uno specchio (Tab. 8) e coi diversi sinonimi i vari passaggi del ciclo evolutivo completo dei coccidi.

TAB. 8



La *coccidiosi* è una infezione cellulare legata alla schizo-o-monogonia, ed alla successiva invasione delle cellule epiteliali delle vie aeree (naso, laringe, trachea, polmone), delle vie digerenti (bocca, stomaco e specialmente intestino), delle vie biliari, del fegato, del rene, e del testicolo; raramente n'è invasa la milza, e non ne sono mai invasi gli organi sessuali femminili.

Negli animali inferiori può essere una infezione anche dei tessuti in quanto che i coccidi invadono la pelle, il tessuto connettivo, muscolare e il mesenterio: questi sporozoi non sono dunque sempre

e obbligatoriamente parassiti endocellulari; sono, comunque, assai diffusi, si incontrano cioè nei vermi, miriapodi, insetti, molluschi, pesci, anfibi, rettili, uccelli, mammiferi, e anche nell'uomo. Sono gli sporozoi più frequenti negli uccelli e nei mammiferi, e in specie fra gli erbivori. Fra i *Coccidi patogeni* a noi interessa di più il seguente:

**Coccidium oviforme:** (sin. *eunicoli*, *perforans*).

La fig. 82 dimostra il ciclo di sviluppo di questo coccidio: le prime quattro figure mostrano il ciclo asessuale che termina con

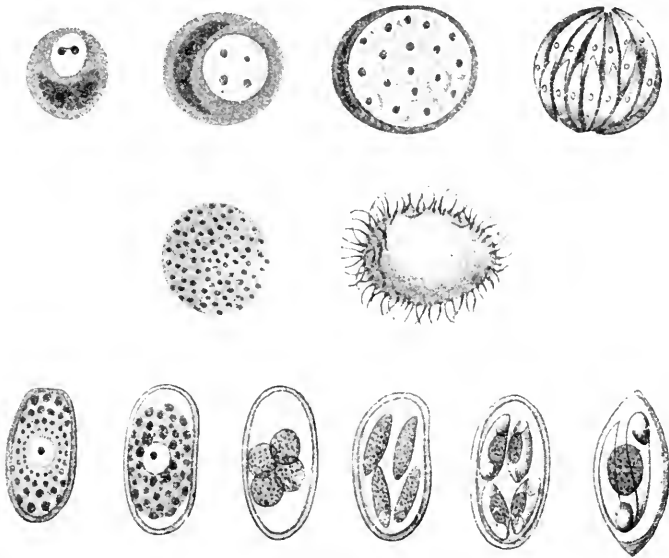


fig. 82 (da Rivolta e Siedlecki).

la monogonia: le due figure di mezzo mostrano il macrogamete e il microgametocito: le sei figure in basso, mostrano alcuni stadi del ciclo sessuale. Cioè avvenuta la fecondazione, si ha la oocisti e poi la formazione di sporoblasti, e infine la formazione di spore che germinano gli sporozoi, i quali ricominciano la nuova infezione.

Il coccidio oviforme è stato trovato finora nell'uomo e nei bovini oltrechè nei conigli.

Nell'uomo è stato descritto da Gubler in un caso di tumori pseudocancerigini del fegato: i tumori erano ripieni di un li-



quido in cui nuotavano corpuscoli ovoidi, riconosciuti poi da Leuckart come coccidi oviformi. Nel rene ed uretere dell'uomo da Baillet e Lucet, nell'essudato pleurico da Künster e Petres sono stati pure indicati dei coccidi, non però ben definiti, nè certamente tali.

Nel coniglio è notissima e comune l'infezione coccidica del fegato e dello intestino.

### Vaccino e vaiuolo.

Sono state riferite ai coccidi altre infezioni dell'uomo; passiamole perciò brevemente in rivista.

Fin dal 1892 il Guarnieri coltivando la linfa vaccinica nella cornea del coniglio ebbe a notare un fenomeno assai caratteristico, cioè 60-70 ore dopo dell'innesto un'eruzione di puntolini migliarici, e poi una piccola ulcerazione irregolare a bordi frastagliati. La cornea attorno si opaca; raramente si ha ipopion. Presto però la necrosi epiteliale suddetta si limita e si ha la riparazione del processo con un leucoma centrale.

All'esame microscopico (fig. 83 parte superiore e media) dentro le cellule epiteliali di fianco al nucleo si vedono corpuscoli in varie fasi di sviluppo, che furono dall'A. interpretati come parassiti endo-cellulari del vaccino e chiamati perciò *Cytoryctes vaccinae*.

Il Guarnieri continuando gli studi sulla struttura e sullo sviluppo di questi corpuscoli, ha trovato in essi un citoplasma granuloso, con un nucleo vescicolare provvisto di un cariosoma, ovvero con un grosso granulo, rotondeggiante od ovoide, di cromatina, che tiene luogo del nucleo vescicolare.

Si avrebbe anche (fig. 83, parte inferiore) una moltiplicazione e divisione della cromatina cioè una moltiplicazione nucleare per un processo di divisione diretta; e per un tal modo di riproduzione sarebbe molto verosimile si tratti di sporozoi.



fig. 83 (da Guarnieri).

Gli studi del Guarnieri ebbero parecchie conferme tra le quali citerò quelle del Monti e del Wasilewski, che dopo lunghe ricerche concludere essere la più verosimile la teoria che i detti corpuscoli siano gli agenti patogeni del vaccino.

Altri hanno obiettato che siano invece inclusioni cellulari derivanti da vari stimoli chimico-fisici sulla cornea.

Il Gorini ha utilizzata la relazione corneale del Guarnieri per fare il controllo del vaccino, ammettendone la purezza e la genuinità, quando insieme coi suddescritti fenomeni locali caratteristici, non si ha ipopion nelle prime 24-48 ore dell'innesto.

Corpuscoli endocellulari perfettamente analoghi a quelli del vaccino, furono dal Guarnieri descritti sulla cornea del coniglio, coltivandovi linfa vaiuolosa: si avrebbe dunque anche un *Cytoryctes variolae*.

È infine da notare che Piana e Galli Valerio arrivarono agli stessi risultati del Guarnieri con l'innesto del contenuto delle pustole del vaiuolo del cavallo (Horse-pox e small-pox) nella cornea del coniglio.

Ultimamente però il Sanfelice dalle pustole e dagli organi dei vaiuolosi, come pure dalle pustole vacciniche ha coltivato un cocco singolare, morfologicamente uguale allo stafilococco piogeno aureo, ma differenziabile per la sua azione patogena, cioè capace di riprodurre alterazioni vaiuoliformi nei cani, nonchè la caratteristica reazione macroscopica e microscopica, descritta dal Guarnieri sulla cornea del coniglio.

Studi ulteriori dovranno mettere in rapporto queste varie ricerche e stabilire definitivamente la natura della causa del vaccino e rispettivamente del vaiuolo.

### Mollusco contagioso dell'uomo.

Si manifesta, come è noto, con vescicopustole biancolattee, contenenti caratteristici corpuscoli rifrangenti, rotondeggianti, detti corpuscoli del mollusco.

Preferisce le parti dove la pelle è più sottile (petto, addome, braccia): è trasmissibile da uomo a uomo, e finora non ad altri animali.

Circa 40 anni fa il Virchow paragonò i corpuscoli del mollusco al coccidio oviforme e la sua opinione è stata in maggiore o minor grado seguita fino ai nostri giorni da Klebs, Bollinger, Neisser, ed altri.

Bizzozzero e Manfredi invece ne negarono la natura parasitaria.

Casagrandi con ricerche microchimiche non è riuscito a definire se si tratti di un parassita vegetale oppure di un protozoo. Dai noduli ha isolato blastomiceti, incapaci però di riprodurre la malattia (v. Microscopia pag. 23).

La causa di questo morbo non è quindi ben chiara: la malattia microscopicamente uguale, e pel resto analoga, del vaiuolo dei colombi sarebbe prodotta da un virus filtrabile (v. loc. cit.). Ma non così comportasi il mollusco contagioso (De Blasi e Santori).

### Tumori maligni.

In questi, parecchi autori hanno descritto (fig. 84) delle neoformazioni endocellulari che vennero somigliate ai coccidi. Ma per parlare dei coccidi non basta indicare delle figure o forme di moltiplicazione per divisione, oc-

corre dimostrare il doppio ciclo di sviluppo sopradescritto, nonchè la vita del parassita in due ospiti differenti. Invece che di protozoi trattasi con tutta probabilità di alterazioni del protoplasma e del nucleo delle cellule.

E poi Sanfelice ha dimostrato che certi blastomiceti inoculati si trasformano nei tessuti in modo da prendere figure identiche a quelle descritte come coccidi del cancro. Secondo lo stesso A. alcuni tumori si potrebbero sperimentalmente riprodurre con l'inoculazione di un *saccaromices* detto appunto *neoformans*.

Ma anche la teoria blastomicetica non spiega tutta l'eziologia dei tumori maligni. E sono tuttavvia riuscite infruttuose le ricerche di batteri o di organismi amebiformi e in genere di protozoi patogeni di così terribile malattia.

### Rabbia.

Da mie ricerche sulle proprietà del virus rabbinico, e sulla resistenza sua agli agenti fisicochimici, avevo concluso fin dal 1887 che il virus rabbinico per la sua poca tenacità si scosta dai virus batterici allora conosciuti. Divesta e altri poi aveano pensato a protozoi.

Recentemente A. Negri ha trovato in modo costante nel sistema nervoso degli animali rabbinici, a fresco e col metodo del Maun, forme che egli tende a ritenere parasitarie dentro le cellule nervose, ove prendono dimensioni svariatissime, dalle rotondeggianti e assai piccole (1-5  $\mu$ ), alle ovali o triangolari, alle ellittiche o piriformi, lunghe  $\mu$  27, larghe  $\mu$  5. Queste forme più grosse contengono a lor volta piccoli corpiccicoli che si colorano in turchino, mentre il resto del protoplasma si colora in rosa, e pare indichino un processo di moltiplicazione. È dubbio ancora però che siano protozoi. Certo sono assai scarse nel pavimento del IV ventricolo, dove è notoriamente più localizzato il virus rabbinico. E sinora nelle ghiandole salivari del cane non furono trovate nè queste nè altre forme che si possano dire protozoiche.

Ad ogni modo le osservazioni sono ancora troppo incomplete per farle ritenere la causa della rabbia.

D'altra parte, per mie esperienze in corso, dovrei concludere che il virus rabbinico si comporti come un virus filtrabile.

### Emosporidi.

Sono parassiti del globulo rosso in varie classi di animali, dai batraci ai rettili, agli uccelli, ai mammiferi e all'uomo.

Le forme più giovani sono cellule ameboidi con nucleo e cariostoma, e abbondanti granuli di cromatina: ben presto acqui-

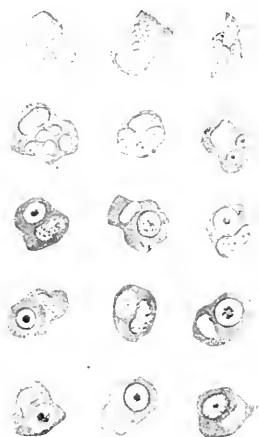


fig. 84 (da Foà).

stano poi granuli di pigmento scuro o nero (melanina) ch'è il residuo della digestione della emoglobina: talvolta possiedono anche vacuoli non contrattili.

Hanno generazione alternante. Cioè: nel 1° stadio della loro vita in animali superiori (monogonia o schizogonia) sono parassiti del globulo rosso dei vertebrati; nel 2° stadio (antigonia o sporogonia) sono invece parassiti di alcuni insetti.

Queste due fasi di sviluppo costituiscono insieme il ciclo completo di riproduzione degli emosporidi: la 1ª fase corrisponde all'infezione del sangue del 1° ospite, la 2ª fase corrisponde all'infezione del 2° ospite, delle zanzare cioè o delle zecche.

Seguiamo questo ciclo completo (fig. 84), prendendo come tipo quello della febbre terzana lieve, ch'è il meglio conosciuto.

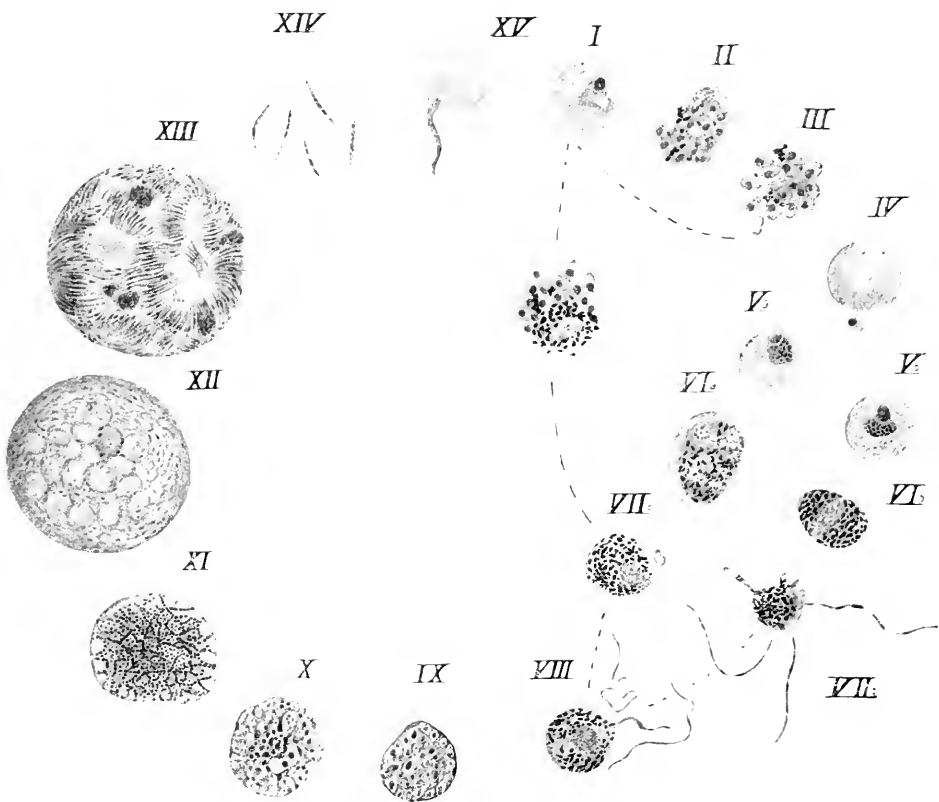


fig. 84 (da Schaudinn ed altri a.).

In I si vede un globulo rosso, che contiene un giovane parassita ameboide, col suo nucleo vescicolare, e con il cariosoma. In II si ha lo stesso parassita che crescendo ha invaso buona parte del globulo rosso; ha i granuli di melanina; e per una proliferazione del nucleo e della cromatina è avviato verso la scissione, o riproduzione monogonica. Questa è completa in III. Le spore o i merozoiti liberi nel plasma possono seguire due vie; o entrare in globulo rosso sano e ricominciare il ciclo asessuale e così via per tante generazioni successive, e quindi per tanti successivi accessi febbrili; ovvero possono già sessualmente differenziarsi ed entrando in nuovi globuli rossi sani (IV) iniziare la produzione di due serie di gameti, i femminili e i maschili; in V<sup>a</sup>, VI<sup>a</sup>, VII<sup>a</sup> vedesi lo sviluppo endoglobulare progressivo dei macrogameti o gameti femminili; in V<sup>b</sup>, VI<sup>b</sup>, VII<sup>b</sup> si vede lo sviluppo dei microgametociti o dei gameti maschili fino alla produzione dei microgameti o flagelli, o spermatozoi. Uno di questi (VIII) penetra nella cellula-novo o macrogamete, e la feconda.

Da qui in avanti lo sviluppo ulteriore o sessuale non può avvenire che nello stomaco delle zanzare; dove le figure IX, X, XI, XII, XIII rappresentano l'evoluzione degli sporonti o anfionti, la formazione cioè di cisti, il protoplasma delle quali, per una divisione e proliferazione nucleare diretta conduce sino alla formazione di un ammasso di sporozoit (XIII), che, rotta la parete cistica, diventano liberi (XIV), vanno nelle glandole salivari, e con la saliva, mediante la puntura della zanzara, penetrano di nuovo nel sangue, dove invadono (XVI) globuli rossi sani, e riprincipiano l'infezione.

Quel che avviene di questi sporozoit durante il periodo d'incubazione della febbre non lo sappiamo ancora. Si riproducono senz'altro, ovvero iniziano subito lo sviluppo monogonico, producendo man mano generazioni di parassiti asessuali, che solo se arrivati a un certo numero determinano la febbre.

Gli accessi febbrili sono certamente legati ad ogni nuova generazione monogonica: s'inizia la febbre con la penetrazione dei nuovi mononti nei globuli rossi, e cessa quando tutti i parassiti giovani, divenuti endoglobulari, cominciano nel globulo rosso il loro ciclo di sviluppo asessuale: la durata di questo ciclo di sviluppo coincide col vario periodo febbrile, rispettivamente quartanario, terzanario o quotidiano.

La febbre può mancare così quando la malattia volge alla guarigione spontanea, come in alcune infezioni gravissime con sintomi perniciosi.

Le recidive a lunghi intervalli son dovute certamente a forme che rimangono latenti. Queste recidive sono così caratteristiche che la febbre malarica si potrebbe chiamare febbre recidivante. Secondo Schaudinn i gameti che preparano il ciclo sessuale sarebbero capaci anche di moltiplicarsi monogonicamente (fig. 84 VI<sup>a</sup>) producendo giovani spore che penetrano come quelle della generazione monogonica o asessuale dentro nuovi globuli rossi, per riprodurre così la febbre recidiva.

Le alterazioni che i parassiti possono indurre nelle emazie sono:

rigonfiamento e consecutivo scoloramento totale, ovvero scoloramento parziale, con la raccolta cioè dell'emoglobina verso il parassita;

raggrinzamento e consecutivo colore più intenso dell'emoglobina;

raggrinzamento, con produzione dei cosiddetti globuli rossi ottonati, cioè del colore dell'ottone vecchio;

frammentazione dei globuli parassitiferi;

comparsa di granulazioni finissime, colorabili coi colori basici di anilina;

trasformazione dell'emoglobina in melanina, onde la melanemia ch'è propria esclusivamente dell'infezione malarica ed è legata alla nutrizione degli emosporidi, cioè rappresenta il residuo indigesto della loro digestione: oltre a ciò può aversi anche la produzione di un pigmento oeraceo (emosiderina) che dà la reazione del ferro: quindi il disfaccimento delle emazie avviene per un duplice meccanismo, che conduce cioè alla produzione della melanina da una parte, della emosiderina dall'altra;

dissoluzione e passaggio dell'emoglobina nel siero del sangue.

Tossine, emolisine, agglutinine specifiche degli emosporidi non furono ancora con certezza dimostrate.

Il meccanismo perciò della distruzione del sangue e della febbre non è conosciuto ancora.

Altrettanto dicasi del meccanismo dell'immunità, di cui conosciamo quella naturale e quella consecutiva alla malattia più o meno lungamente sofferta. La fagocitosi è un processo di grande importanza nel corso dell'infezione malarica; ma se si cerca di analizzare quale influenza eserciti sul decorso della infezione, e se possa condurre alla guarigione spontanea, non si può rispondere nulla di preciso. Certo la diversa mitezza o gravezza dell'infezione si deve alla qualità e alla diversa virulenza dei parassiti. La fagocitosi, poi, certamente, deterge il letto vasale di tutte le scorie e

dei cadaveri degli emosporidi, depositati nel sangue circolante e negli organi durante l'infezione acuta; ma ciò avviene per ogni granulazione estranea che arrivi o si formi nel sangue, o si depositi negli organi.

La generazione amfìgonica o sporogonica si compie, come fu detto, nello stomaco di speciali insetti; il che fu indicato dal Manson, dimostrato per primo dal Ross, e confermato da Bastianelli, Bignami, Grassi, Koch e da molti altri.

La fig. 85, fotografata dal vero, a ingrandimento di circa

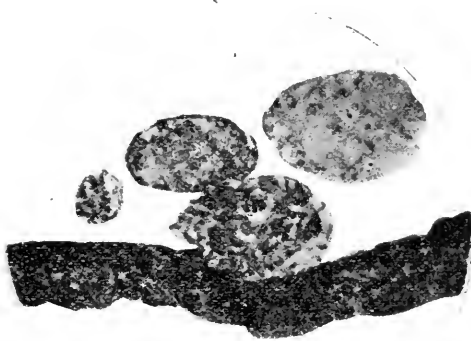


fig. 85.

800 diametri mostra in basso una sezione dello stomaco, al di sopra 4 cisti che rappresentano vari stadi della sporogonia.

Come decorre l'infezione negli insetti e in ispecie nelle zanzare non lo sappiamo bene; pare che durante l'inverno e la primavera possa in esse avvenire una guarigione spontanea, con relativa degenerazione e scomparsa degli sporonti o autiointi; pare altresì che alcune razze di zanzare in alcune speciali località di paludismo senza malaria siano immuni dall'infezione.

### **Emosporidi nell'uomo.**

1. *PLASMODIUM QUARTANAE*. — La schizogonia avviene in 72 ore circa, onde il tipo febbrile quartanario, cioè ogni 3 giorni.

I mononti (v. fig. 86) hanno movimento ameboide pigro e di breve durata; i granuli di pigmento nero sono grossi e poco

mobili: la grandezza massima dei parassiti è quella di una emazia normale.

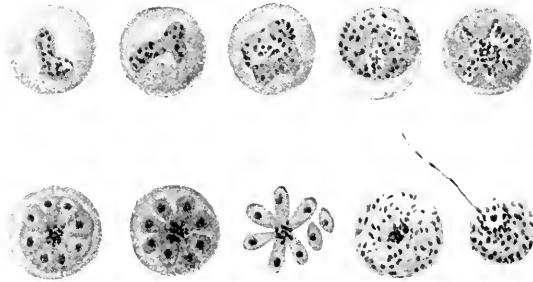


fig. 86.

I merozoiti sono disposti a margherita attorno al nocciolo residuale di pigmento nero, e sono di forma oblunga, in numero di 6-12, e con nucleo.

L'emazia che alberga il parassita non si ingrossa; talvolta anzi è impiecolita ed ha un colorito più scuro.

Quando nel sangue di un malarico si compie una sola generazione asessuale di questo plasmodio si ha la infezione quartanaria semplice; quando son due le generazioni, si ha la quartana doppia, e quando le generazioni sono tre, la febbre quartana diventa tripla, cioè la pseudoquotidiana o quotidiana quartanaria.

Raramente, quando cioè le generazioni monogoniche sono più numerose, si hanno febbri irregolari e subcontinue, ma non mai perniciose.

La distruzione dei globuli rossi è limitata.

Nel sangue periferico i gametociti sono rari, rarissimi i microgametociti.

La sporogonia non è ancora del tutto conosciuta.

Il periodo d'incubazione è di circa 2 settimane, talvolta perfino di 47-66 giorni.

2. *PLASMODIUM TERTIANAE LAEVIS*, s. *VIVAX*. — La schizogonia avviene in 48 ore: i mononti (v. fig. 87) hanno vivacissimo movimento ameboide, granuli di pigmento nero fini e mobilissimi; la grandezza massima di questi parassiti supera quella di una emazia.



I merozoiti son disposti a girasole o a grappolo, hanno figura rotonda, arrivano al numero di 12-20.

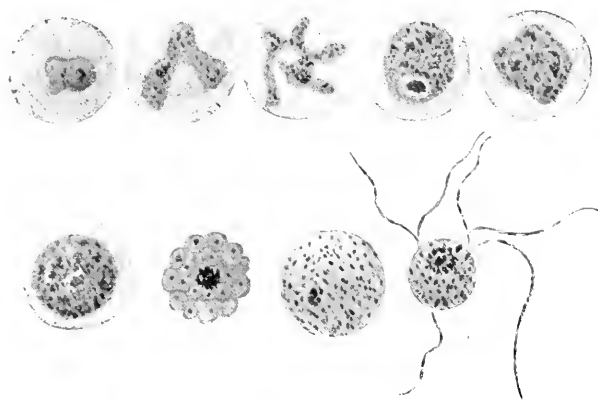


fig. 87.

L'emazia che alberga il parassita si rigonfia e subisce uno scolorimento totale.

Quando nel sangue di un malarico si svolge una sola generazione asessuale di questo emosporidio, si ha la febbre terzanaria semplice, e quando le generazioni sono due la terzana diventa doppia, o quotidiana terzanaria. Rare sono le infezioni terzinarie subentranti, dovute a più generazioni parasitarie: non si ha mai la perniciosa.

La distruzione dei globuli rossi è più attiva che nella quartana, ma è sempre relativamente limitata.

Bisogna saper bene come si possono riconoscere nel sangue circolante i gametociti.

In generale si può dire che sono gametociti quelle forme nelle quali la cromatina, senz'essere disseminata per tutto il plasma, è invece racchiusa come dentro un anello del plasma stesso, ed anche quando con lo sviluppo ulteriore si moltiplica e si sgretola in fini granulazioni, continua sempre a costituire un tutt'insieme.

Nello stadio adulto si possono anche distinguere i macrogameti dai microgametociti.

Questi ultimi hanno la cromatina accumulata in forma di un gomito di fili; il plasma d'intorno è pochissimo colorabile, ed essendo fortemente pigmentato di granuli di melanina, questi risaltano molto sul fondo quasi scolorato del plasma.

I macrogameti invece hanno un solo granulo o un nastro di cromatina in mezzo a una zona di plasma poco o punto colorata; il pigmento nero è disseminato irregolarmente per tutto il corpo protoplasmatico.

Ad ogni apiressia si forma una nuova generazione di gameti; ogni nuovo accesso febbrile ne distrugge la più gran parte.

La sporogonia avviene a 28°-30° in 8 giorni circa nello stomaco degli anofeli.

Il periodo d'incubazione è in media di 10 giorni, eccezionalmente perfino di 3 settimane.

3. *PLASMODIUM AESTIVOAUTUMNALE* s. *PRECOX*. — È il parassita delle febbri gravi o estivoautunnali o tropicali.

Di queste febbri si distinguono 2 tipi clinici fondamentali; quotidiana vera, terzana grave. E analogamente si hanno 2 varietà parasitarie, le quali si distinguono principalmente perchè l'una compie la schizogonia in 24 ore, l'altra in 48 ore, e perchè si possono rispettivamente riprodurre con la inoculazione sperimentale.

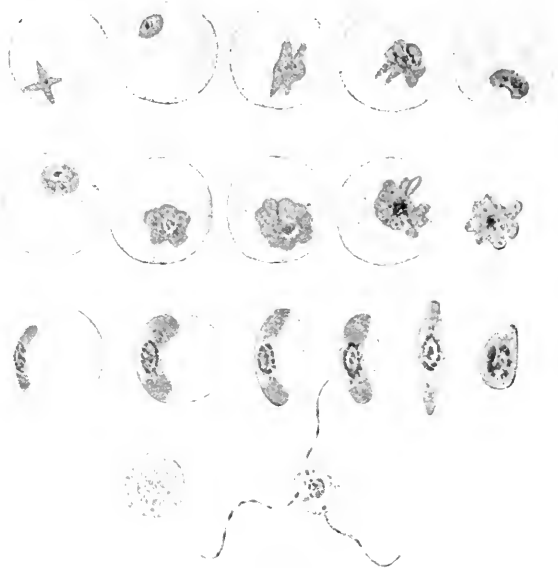


fig. 88.

La terzana grave è assai più frequente della quotidiana vera. Morfologicamente la diagnosi differenziale fra queste 2 varietà è difficilissima, e solo è possibile fra i mononti più adulti; cioè

quelli della quotidiana sono già piccoli, hanno movimento poco attivo o sono immobili; mentre quelli della terzana (v. fig. 88) arrivano a  $\frac{1}{3}$  del volume del globulo rosso, hanno granulini di pigmento mobili e spesso il contorno dentritico.

Del resto i mononti giovani hanno movimento aneboide vivace, finissimi granuli di pigmento nero; i merozoiti sono a piccoli cumoli di corpicciuoli rotondi irregolarmente disposti in numero di 6-8.

Il globulo rosso ospite subisce di rado uno scoloramento generale; più spesso lo scoloramento è parziale per l'accumulo dell'emoglobina verso il parasita.

Si ha pure quell'altra caratteristica necrosi che conduce alla formazione dei cosiddetti globuli rossi ottonati.

È questo il solo parasita che può dare le perniciose, oltrechè le febbri continue e subcontinue gravi.

Le febbri cosiddette tropicali non differiscono clinicamente dalle nostre estivoautunnali, nè v'è differenza etiologica tra quelle e queste febbri.

La perniciosità, oltrechè da ragioni individuali (malattie pregresse o preesistenti) dipende da ragioni parasitarie, cioè: presenza di parassiti estivoautunnali, abbondanza del reperto parasitario almeno in qualche organo (cervello ecc.), maggiore attività proliferativa, alto grado di tossicità parasitaria. Quest'ultima è così variabile che di parassiti estivoautunnali, dal punto di vista del potere tossico, possiamo averne una varietà attenuata, come nell'alta Italia e in parte della media, una varietà a virulenza esaltata, come nel Lazio e nell'Italia meridionale e insulare, e infine una varietà ipertossica o perniciososa.

La distruzione del sangue nella infezione grave può essere tale che un solo attacco di perniciososa può costare fino un milione di emazie per mmc.

Con la distruzione del sangue, e secondo alcuni con la perniciosità dei parassiti, fu messa in rapporto anche l'emoglobinuria.

Questa può essere causata da chinino, nei malarici, ed anche, in questi medesimi malati, può sorgere senza somministrazione di chinino.

L'eziologia però e la patogenesi di questa infezione sono oscure ancora: non si sa se provenga da speciale varietà di plasmodi estivoautunnali, ovvero da un altro speciale parasita, rassomigliabile ai pirosoni o piroplasma della emoglobinuria dei bovini.

Qualche raro caso di emoglobinuria si è avuta anche insieme con la quartana e con la terzana lieve.

Oltre alle 2 suddette varietà parasitarie estivoautunnali si può talora osservare il *plasmodium immaculatum*, cioè senza pigmento nero e quindi senza melanemia: di simili emosporidi apigmentati se ne vedono in altri animali; nell'uomo si trovano raramente sporulazioni asessuali senza pigmento nel cervello, mentre in altri visceri se ne trovano col blocchetto di melanina al centro. Ciò vuol dire che alcuni emosporidi estivoautunnali della varietà perniciosa possono arrivare alla schizogonia senza prima pigmentarsi: ma se possa farsene una specie a parte, o si tratti di una terza varietà è ancora da vedersi.

I gametociti dei plasmodi estivoautunnali si riconoscono perchè fino da giovani hanno la figura allungata, che diventa poi ovoide, e poi semilunare.

Con la colorazione si riconoscono quando sono giovani anche perchè più intensamente colorabili dei mononti.

I gametociti adulti si possono differenziare anche nelle due forme sessuali.

Il microgametocito ha il pigmento nero accumulato al centro, in forma di un largo anello pigmentato, e alla periferia ha 12-20 granuli di cromatina, i quali sono distribuiti anche lungo gli spermoidi.

Invece il macrogamete ha il pigmento nero distribuito irregolarmente, e solo 1-2 granuli di cromatina.

I gameti maschili sono sempre molto più numerosi di quelli femminili.

La sporogonia a 28°-30° avviene nello stomaco degli anofeli in circa 8 giorni.

Il periodo d'incubazione è in media di 3-4 giorni, talvolta al massimo di 10-17 giorni.

\*  
\*\*

È necessario conoscer bene le note caratteristiche del Gen. *Culex* per saperlo differenziare dal Gen. *Anopheles*.

Le uova di culex (fig. 89 parte superiore), sono raggruppate in forma di tante barehette galleggianti sull'acqua, ed hanno ciascuna una forma come a cuneo.

Le uova di anofeli invece sono (fig. 90, parte inferiore) raggruppate in forma di brevi nastri ed hanno ciascuna la forma di barehetta.

Le larve (fig. 90, parte superiore) di culex si distinguono da quelle di anofeli perchè le prime stanno nell'acqua obliquamente

con la testa in giù e la punta caudale alla superficie; mentre le larve di anofeli stanno orizzontali a fior d'acqua. Una posizione

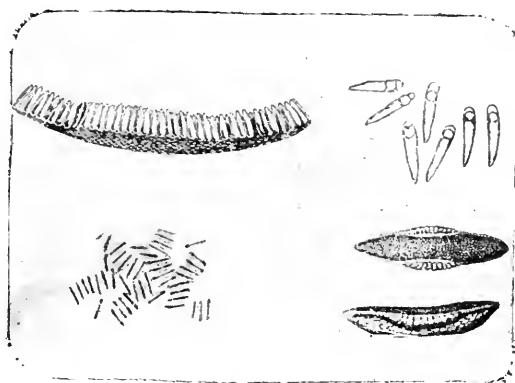


fig. 89.

così diversa e caratteristica dipende dal modo com'è disposto l'apparecchio respiratorio delle trachee: queste nelle prime vanno

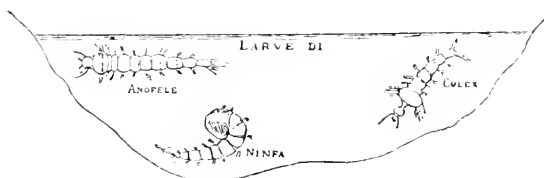


fig. 90.

insieme a sboccare in un solo tubo aerifero all'estremità caudale, mentre nelle seconde sboccano con due stinmi sulla superficie dorsale.

Le *ninfe* dell'uno e dell'altro genere, grossolanamente, si rassomigliano nella forma comune di grossi interrogativi (fig. 90, parte inferiore), e nel loro vivace movimento a capriola: basta tenerle a sviluppare per farne subito la diagnosi dalle forme perfette.

Queste, o gli *insetti perfetti* si distinguono benissimo dalle appendici cefaliche (fig. 91, 92 ingrandite circa 10 volte).

I *culex*, e più precisamente le loro femmine, hanno fra il puniglione e le antenne (fig. 91) i due palpi rudimentali. Gli anofeli

invece (fig. 92) li hanno lunghi quanto il pungiglione, e così le loro appendici cefaliche, quando sono bene staccate fra loro, diventano 5, mentre nei *eulex* son 3.

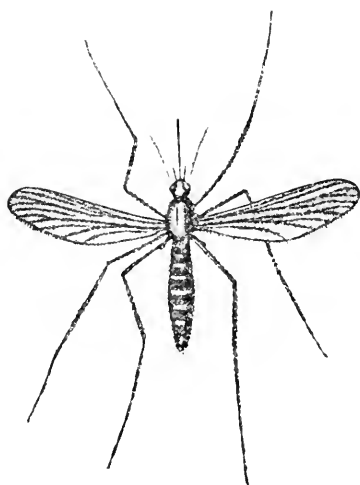


fig. 91.

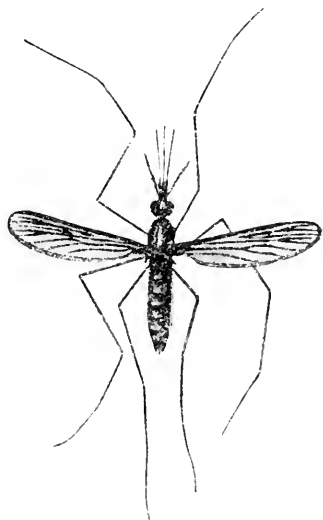


fig. 92.

Si riconoscono anche a primo aspetto dalla forma e posizione dell'addome, dalla posizione delle zampe, e così via.

In Italia di anofeli ne abbiamo 4 specie, e tutte 4 possibili propagatrici di malaria. Le specie si riconoscono, fra l'altro, dalle ali.

*Anopheles clariger* (fig. 93) ha 4 macchiette a punti a forma di una squadra . . . o di un T incompleto nella sua branca trasversale.

*Anopheles pictus* (fig. 94) ha le macchie a strie sul margine anteriore dell'ala.



fig. 93.



fig. 94.

*Anopheles superpictus*, che abbonda soprattutto in alcune località del mezzogiorno d'Italia, è il più piccolo.

*Anopheles bifurcatus*, che vive nei boschi, non ha affatto macchie sulle ali.

### Tecnica per l'esame delle zanzare malariche a fresco.

Siccome i parassiti malarici possono trovarsi nello stomaco o intestino medio degli anofeli e nelle glandole salivari è indispensabile la preparazione di ambedue questi organi.

Si adopera una soluzione fisiologica (0,75 %) di cloruro sodico, la quale non altera l'aspetto dei parassiti, come fa invece la soluzione di formalina (formalina 2, cloruro sodico 0,75, acqua distillata 100). Questa ultima soluzione non è quindi consigliabile per uno studio accurato.

Occorrono due aghi ed un microscopio da dissezione, che ordinariamente si adopera solo per preparare le glandole salivari.

Per la *preparazione dello stomaco* la zanzara viene cloroformizzata versando due o tre gocce di cloroformio o di benzina sul tappo di cotone che chiude la provetta nella quale fu catturata.

Poiché le si tolgono colle dita o con una forcicetta le ali e le zampe.

Quindi si dispone col dorso sul portaoggetti in mezzo ad una goccia di soluzione fisiologica.

Con uno degli aghi, appoggiato con delicatezza fra il torace e l'addome, si tien ferma la zanzara; con l'altro si stira l'estremità posteriore dell'addome in corrispondenza del terzultimo anello.

Vien fuori ordinariamente, attaccato ai tre ultimi anelli, il tubo digerente, compresa buona parte dell'esofago.

Operando con accortezza si evita di estrarre le ovaie, le quali, quando le uova sono mature, ingombrirebbero la preparazione.

Si deve compiere la preparazione dentro la goccia di soluzione fisiologica; si copre quindi col vetrino coprioggetti evitando qualsiasi pressione.

Si può guardare a secco con l'obbiettivo 8<sup>x</sup> di Koritska.

Gli anfitriti e le oocisti si trovano di regola nella parte dilatata dell'intestino medio, o stomaco propriamente detto, ma possono trovarsi anche in altre sezioni di esso.

Possono essere pochissimi (uno, due) o in numero considerevole (parecchie centinaia).

L'esame dello stomaco è bene farlo quando la zanzara ha digerito il sangue. Nei casi in cui si deve esaminare uno stomaco con sangue si procede nello stesso modo. E di più si fa una leggiera pressione sul vetrino coprioggetti per schiacciare un po' lo stomaco; il sangue fuoriesce e si allontana con un po' di carta bibula, mentre da un lato si mette qualche altra goccia di soluzione fisiologica.

La *preparazione delle glandole salivari* esige molta pazienza.

Si fa meglio col microscopio da dissezione perchè i tuboli glandolari non sono più lunghi di 1 mm.

Si adopera la stessa soluzione fisiologica suddetta.

La zanzara, a cui fu tolto lo stomaco, si adagia sul fianco in mezzo ad una goccia di liquido.

Con un ago si tien fisso il torace nel mezzo e con l'altro si stacca delicatamente la testa.

Le glandole salivari possono rimanere attaccate alla testa e in tal caso si veggono nuotare nel liquido, ed è facile isolarle con la punta dell'ago. Ovvero rimangono nascoste nel torace e allora si deve premere leggermente con l'ago, sulla parte antero-laterale di esso: con una pressione ben fatta le glandole schizzano fuori dal torace nel liquido.

Se la preparazione è completa debbono vedersi sei tubi riuniti tre a tre, due più lunghi e uno mediano più corto. Si pone sulla preparazione il coprioggetti, al quale possono farsi i piedini di cera per non schiacciare le glandole.

Se queste sono infette si veggono gli sporozoit fra le cellule o nel lume; e per poco che si schiacci la preparazione fuoriescono in gran numero nel liquido ambiente.

Gli sporozoit possono vedersi isolati e riuniti in fascetti. Possono essere scarsi ovvero in numero sterminato. L'osservazione può farsi anche a secco con l'obbiettivo 8\* di Koritska. Si può anche procedere alla fissazione, colorazione, e al taglio delle sezioni, come al solito.

La fig. 95, fotografata dal vero, mostra l'anatomia grossolana dell'appa-



fig. 95.

rato digerente, cioè da sinistra a destra mostra a piccolo ingrandimento, le appendici cefaliche, le ghiandole salivari, l'esofago, lo stomaco, e alcuni tuboli del Malpighi.

\*  
\*  
\*

Fra gli emosporidi, il genere *APIOSOMA* o *PIROSOMA* si credeva proprio sinora dei soli animali, come si ha ad es. nella malaria bovina, febbre del Texas, o emoglobinuria dei bovini.

Recenti ricerche di Gotschlich dimostrerebbero che analoghe forme di protozoi si ritroverebbero nel sangue degli ammalati di tifo petecchiale. Si ritroverebbero cioè: forme endoglobulari, piriformi, con vivace movimento ameboide: forme estraglobulari, ossia cisti (forme di riproduzione asessuale?) e corpi flagellati o



gameti. Queste ricerche eziologiche verrebbero a consolidare la ipotesi che certi insetti succhiatori (cimici ecc.) trasmettono questa epidemia.

\*  
\* \*

Alla classe degli sporozoi appartengono anche: i MIXOSPORIDI che producono malattie specialmente nei pesci; i MICROSPORIDI che attaccano a preferenza gli artropodi (pebrina del baco da seta); i SARCOSPORIDI o psorospermi delle carni.

Questi ultimi sporozoi si trovano molto diffusi nei muscoli dei vertebrati, a preferenza nei mammiferi (suini, ovini, bovini).

Sono parassiti della fibrocellula muscolare, senza destare però reazione nel tessuto circostante, e senza produrre fenomeni morbosi, eccetto tutt'al più qualche paralisi o paresi muscolare. Possono raggiungere perfino la lunghezza di 2 cm.

Il loro ciclo di sviluppo è ancora poco conosciuto. Si conosce il solo stadio dei cosiddetti otricoli del Miescher che sono cisti allungate, provviste di una membrana chitinoide a 2 strati, una liscia l'altro striato per la presenza di poricamali, divise all'interno, mediante setti, in molte camere pieni di cosiddetti pansporoblasti, o accumoli di spore, o corpuscoli reniformi, falciformi ecc. provvisti di nucleo (v. Microscopia fig. 10, pag. 30), e omologhi, forse, ai corpuscoli falciformi dei coccidi. Non sono ancora ben noti i modi d'infezione.

Ultimamente lo Smith è riuscito a riprodurre, dopo un periodo d'incubazione, la *sarcocystis muris* facendo mangiare la carne di sorci infetti a sorci sani. Ma per altre sarcocisti, per quelle degli erbivori, questo modo d'infezione, per la via dello stomaco, non è dimostrato, e alcuni pensano anche a un ospite intermedio.

Dei vari sarcosporidi finora descritti a noi interessa uno trovato nell'uomo; cioè la

#### **Sarcocystis lindemanni.**

Fu detta così dal Rivolta in onore del russo Lindemann che nel 1863 accennò a corpuscoli di Miescher nell'uomo.

In realtà se ne conosce nell'uomo un solo caso certo, descritto a Nancy da Baraban e St. Rémy nei muscoli laringei di un

giustiziato: si manifestava sotto forma di cisti di grandezza varia fino a 1,6 millim. (fig. 96: in A vedesi il taglio trasverso, in B il



fig. 96.

taglio longitudinale della cisti) contenenti spore o corpuscoli bananiformi della lunghezza 8-9 mm.

Un altro caso, non ben però determinato, fu descritto a Mosca da B. Rosenberg: si trattava di una cisti del miocardio piena di corpuscoli ovali, reniformi, oviformi ecc.

La classe dei CIGLIATI non contiene protozoi veramente patogeni, ma invece ecto- od entocommensali.

Ricorderò il solo

*Balantidium coli* (fig. 97).

Questo d'ordinario alberga nel porco, dal quale sembra possa essere contagiato l'uomo. Si trova in ammalati che hanno sofferto altre malattie in-



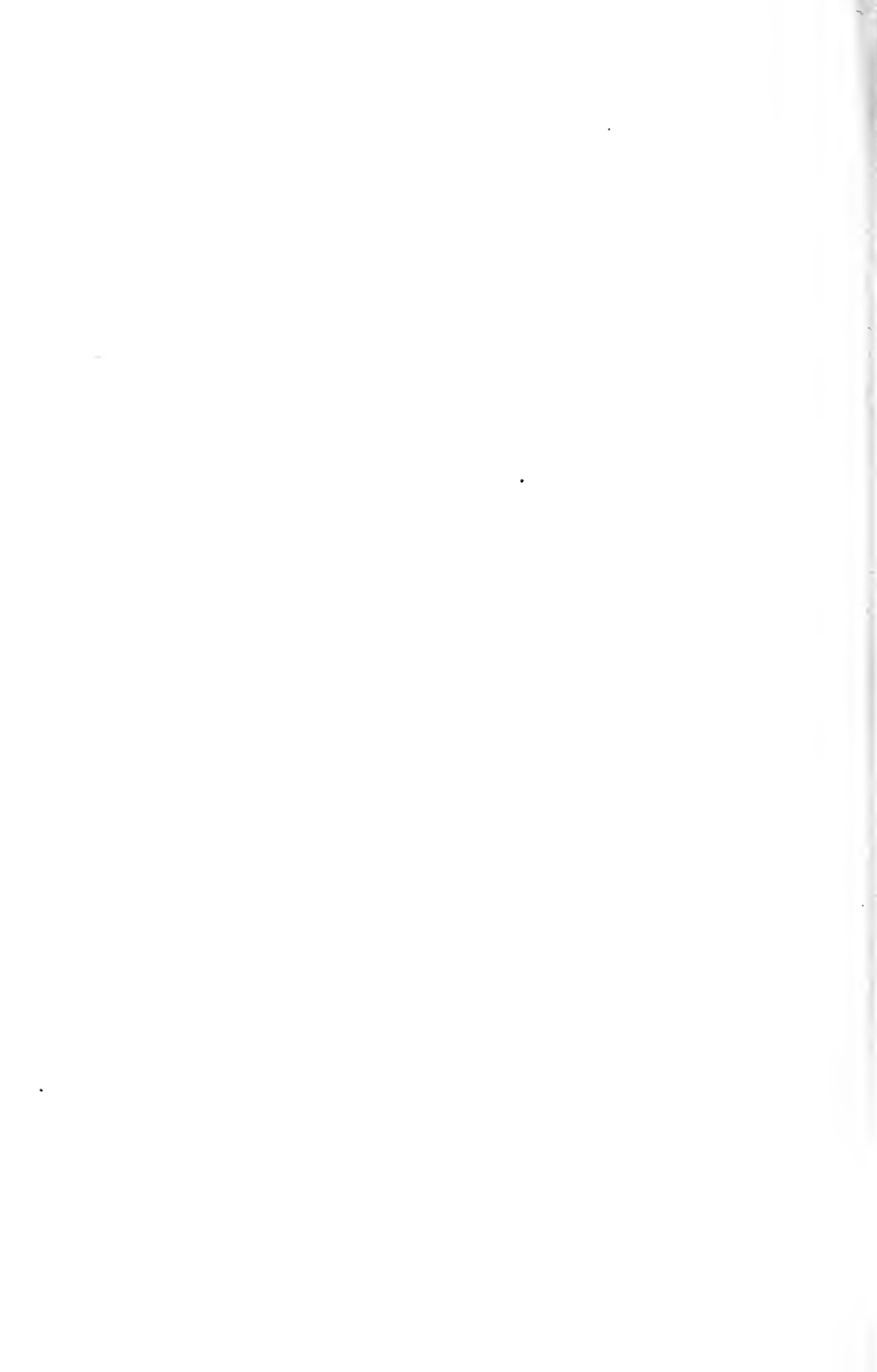
fig. 97.

testinali, e continuano ad avere catarro intestinale più o meno intenso, con alternative di peggioramenti e miglioramenti, e con ulcerazioni del crasso, del

cieco e del retto nelle quali all'autopsia si trovano i balantidi, penetrati anche nella sottomucosa, e moltiplicatisi certe volte in tal numero che si crede possano irritando mantenere le ulcere aperte e provocare anche emorragie. Però i medesimi effetti patologici possono aversi con ulcerazioni intestinali senza questo protozoo.

La fig. 97, in A mostra lo stadio adulto in movimento, in B e C mostra la scissione, in D mostra la fase di accoppiamento e, nella parte inferiore, mostra la fase cistica, nella quale esce dall'intestino insieme alle feci.

Le cisti sono grandi in media  $\mu$   $60 \times 32-35$  per quanto si trovino anche quelle grandi  $\mu$   $80 \times 50$ ; esse hanno una forma ora tondeggiante, ora ovoidale con un polo più acuminato dell'altro; la parete cistica è a doppio contorno, regolarissima; il contenuto è grossolanamente granuloso, e occupa tutta la cisti, salvo in un punto che rammenta il peristoma dei balantidi liberi (Casagrandi e Barbagallo).



PROF. O. CASAGRANDE

BATTERIOLOGIA

---



---

## BATTERIOLOGIA

---

Batteri sono stati dapprima detti da Cohn e Koch i microrganismi studiati da Müller (*vibrio e monas*), dall'Ehrenberg, dal Pasteur (*torulacee, batteri, ribrioni, monadi*), dal Béchamps (*microzimi*), dal Davaine (*batteridi*), dal Henle (*microsporine e monadine*), dal Sédillot (*microbi*), dal Nägeli (*schizomiceti*).

Oggidì però bisogna separare dal gruppo dei Batteri tutte quelle forme che appartengono sia ai Protozoi (come le monadi, gli infusori) sia agli Ifomiceti e ai Blastomiceti, e intendere per batteri quelle forme di vegetali, capaci di riprodursi per scissione e per spore o solo per scissione, rotonde o allungate, dritte o curve, di dimensioni estremamente piccole, le più piccole che si conoscano.

Quindi batteri sono gli esseri che il Cohn chiamò, se rotondi, *sferobatteri*; se di forma allungata e dritta, *microbatteri* gli immobili, *desmobatteri* i mobili; se di forma allungata e curva, *spirobatteri*: ossia quei germi che la generalità chiama:

*Cocchi* se di forma rotonda;

*Batteri* o *Bacilli* se di forma allungata;

*Vibrioni* e *Spirilli* se di forma curva e a spira.

Le ricerche moderne su tutti questi esseri hanno condotto a trovare che si tratta costantemente di vegetali, appartenenti al gruppo delle *schizoficce*, a cui appartengono *alghe* e *funghi*. Come però non è netta la separazione tra alghe e funghi, così anche nei batteri non sempre è netta la loro origine dalle une o dagli altri, benchè la maggioranza possa ritenersi derivata dai secondi.

Si è visto infatti che certe forme bacillari (come il b. della tubercolosi) produrrebbero un micelio, dei conidi, delle zigospore, le quali si sviluppe-

rebbero in modo da sembrare risultanti dalla copula di cellule genitrici (Droba), e che altre (come il b. del tifo) formano sferule con dentro, piccoli corpiccioli, quasi si trattasse di stilospore (Gamaleïa) ecc.

Studiando poi tutti i singoli gruppi dei cocchi, dei batteri, dei bacilli, dei vibrioni, ecc., nei quali si trovano dei germi capaci di vivere in organismi viventi e di ucciderli, ossia i così detti *germi patogeni*, e tenendo presenti i rapporti morfologici di questi con altri germi banali, si è riuscito a dimostrare che detti germi patogeni hanno intima parentela con altri, viventi nell'ambiente, cioè con dei saprofiti.

Ora questo studio, a mio avviso, conduce a trovare nei singoli gruppi delle batteriacee dei capostipiti nei quali si riuniscono i caratteri morfologici e biologici di tutto il gruppo, ai quali capostipiti si riferiscono anche i caratteri del batterio patogeno, quello che individualizza, per dir così, il gruppo stesso.

Così la batteriologia cessa di essere un dizionario descrittivo di una serie di germi distinti e separati tra di loro per caratteri diversi e supposti specifici, ma forma un tutto armonico con la Botanica e con la Zoologia.

---



## PARTE I.

**PROPRIETÀ GENERALI DEI BATTERI  
E TECNICA BATTERIOLOGICA.**

I Batteri, dal punto di vista della loro morfologia (struttura, forma, grandezza, ecc.) e della loro biologia (movimento, riproduzione, manifestazioni diverse della vita attiva, comportamento verso gli agenti esterni) formano oggetto di studio di quella parte della microbiologia che dicesi « Batteriologia generale ».

Ora, la conoscenza della morfologia e biologia generale di tali esseri, è necessaria a conoscersi non solo dal biologo, ma anche dal patologo e dall'igienista, poichè senza di essa è impossibile farsi un chiaro concetto dei caratteri di tutte le forme batteriche patogene.

Quindi se, dal punto di vista pratico, ha assunto grandissima importanza quella parte della Batteriologia che si occupa dello studio delle proprietà dei batteri, che possono essere patogeni per l'uomo e per gli animali; tuttavia lo studio di essi e della flora microbica dell'acqua, dell'aria, del suolo deve essere preceduto da quello delle proprietà generali dei batteri, pur dando maggior risalto ai patogeni in specie.

Perciò le proprietà dei germi saranno distinte per mezzo

*dei caratteri microscopici,*

*dei caratteri colturali,*

*del modo di comportarsi verso gli agenti fisici e chimici,*

*di proprietà biologiche speciali,*

*del modo di comportarsi verso gli animali in cui vengono inoculati,*

*del modo di comportarsi di fronte agli umori degli animali immunizzati o infetti.*

Va da sè poi che, per farsi un concetto di tutte queste proprietà, essendo necessario conoscere bene la tecnica batteriologica, nello studio della parte generale della batteriologia, faremo entrare tutto quello della tecnica, che è necessario a conoscersi per questo genere di ricerche.

## CAP. I.

PROPRIETÀ DEI BATTERI  
DIMOSTRABILI COLL' ESAME MICROSCOPICO.

A. — Soluzioni coloranti e preparati.

Per le ricerche da eseguire a mezzo dello esame microscopico ci serviamo in genere di preparati colorati e di preparati a fresco o a goccia pendente.

Le ricerche a mezzo di preparati colorati si possono distinguere in:

1° *ricerche mediante colorazioni specifiche*, ossia mediante procedimenti coi quali si distingue e si diagnostica solo un dato microrganismo (*metodi di colorazione del bacillo della tubercolosi*);

2° *ricerche mediante colorazioni speciali*, ossia mediante procedimenti coi quali si riescono a mettere in evidenza caratteri propri di un solo microrganismo o di un dato gruppo di microrganismi (*metodi di colorazione del bacillo della difterite, del gonococco e del diplococco*);

3° *ricerche mediante colorazioni comuni*, nelle quali rientrano i metodi ordinari di colorazione, che non dovrebbero avere lo scopo di condurre a diagnosi speciali, come ordinariamente si crede, ma solo di mettere sulla strada per le ulteriori ricerche.

La colorazione del materiale non è però che l'ultimo atto di una serie di procedimenti, che conducono al completo allestimento del preparato.

**I. Preparazione delle soluzioni coloranti.**

Le sostanze coloranti che adoperiamo in batteriologia sono fatte in genere con colori basici di anilina, raramente con colori acidi.

Con questi colori si fanno:

- a) *soluzioni semplici acquose* (colore 1, acqua distillata 100);
- b) *soluzioni idroalcoliche*, composte di una parte di colore, dieci di alcool a 90°, e novanta di acqua distillata;
- c) *soluzioni mordenzate*, nelle quali all'acqua è sostituita la soluzione acquosa di un mordente, per es.: di acido fenico al 5  $\frac{0}{100}$ , o di potassa all'1  $\frac{0}{100}$  o dell'acqua di anilina (che si fa sbattendo per 5 minuti da 3 a 5 emc. di olio di anilina in 100 emc. di acqua distillata e quindi filtrando su filtro bagnato).

Le soluzioni coloranti più in uso sono le idroalcoliche e le mordenzate, ed esse nella pratica si fanno assai rapidamente partendo da una soluzione alcolica satura del colore (25 gr. di colore e 100 cmc. di alcool assoluto) di cui si prelevano 10 cmc. e si aggiungono a 100 di acqua o di una soluzione mordenzata. Così si ottengono il liquido di *Ziehl*, o fucsina fenica, quello di *Ehrlich* o violetto di genziana all'acqua di anilina, di *Löffler* o bien alla potassa, ecc.

Il liquido di *Ziehl* risulta di 1 gr. di fucsina, 10 cmc. di alcool assoluto, e 90 di una soluzione di acido fenico al 5 %.

Il liquido di *Ehrlich* è costituito da 1 gr. di violetto di genziana, 10 cmc. di alcool e 90 di acqua di anilina. Siccome poi questo liquido si altera molto facilmente, si suole farlo volta a volta bagnando una bacchetta di vetro in una soluzione alcolica satura di violetto di genziana, e mettendone tante gocce in acqua d'anilina, posta in una capsula di porcellana, finché sulla superficie del liquido si forma una pellicola a riflessi metallici, persistente.

Quando si procede a colorazioni complesse, spesso bisogna servirsi anche di liquidi decoloranti, che possono essere rappresentati o da una soluzione acquosa di acido solforico dal 5 al 20 % o di acido nitrico dal 10 al 33 %, o dal liquido del Lugol, che si ottiene sciogliendo in 300 gr. di acqua distillata 2-3 gr. di joduro potassico e 1 gr. di jodio.

## II. — Allestimento del preparato.

### PREPARATI COLORATI.

*Distendimento del materiale.* — Per allestire i *preparati colorati* bisogna con un ago di platino sterilizzato (v. Parte I. Cap. III), foggiato ad ansa meglio che dritto (fig. 98), prelevare un po' del materiale contenente i germi e porlo

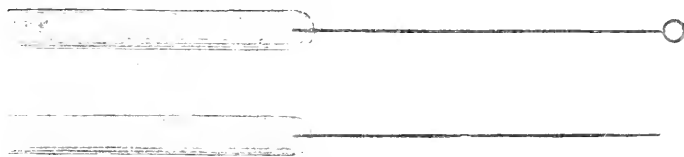


fig. 98.

sopra un vetrino coprogetti pulito (ossia lavato in acqua e in alcool o meglio ancora sgrassato con potassa (v. Parte I. Cap. II, colorazione delle ciglia) (1), distenderlo bene sul vetrino stesso, tenuto con una pinza, scegliendo fra le diverse pinze quelle che più si prestano, quali le pinze del Cornet (v. culture aerobi a goccia pendente) o di Koch o, in mancanza di meglio, le pinze comuni a punte piatte o curve.

Invece dei vetrini coprogetti, si possono adoperare anche i portoggetti, come ha consigliato il Neisser sino dal 1888; in tal caso è meglio deporre il materiale da una parte, in maniera da poter tenere il vetrino senza bisogno di pinze, e senza che il materiale o il colore sporchino le mani.

(1) Se il vetrino non è ben pulito, il materiale si distende male, cioè a blocchi, a zone, e quindi il preparato riesce sporco.

Quando il materiale è sospeso in un liquido, basta raccogliermene un poco e distenderlo con l'ago di platino o col bordo di un vetrino: se però il materiale è molto denso e non si potesse né emulsionare né trammutare coll' ago di platino, si può trasportarlo in un mortaino precedentemente lavato con alcool, sterilizzato mediante l'accensione di quel po' di alcool che rimane sulle pareti del recipiente vuotato. Però è sempre meglio tentare di schiacciarlo fra due portoggetti, lavati e sterilizzati precedentemente alla fiamma, ciò che generalmente sempre riesce. Se si tratta di organi, è utile spappolare l'organo in una capsula di Petri a mezzo di una forbice curva, e poi prelevare una quantità determinata della polpa coll'ago di platino e farne preparati comuni; oppure passare sulla superficie di taglio il bordo di un vetrino e strisciarne la parte sporca su altri portoggetti posti sopra un foglio di carta bibula, tenendo, mentre si striscia, una delle estremità ferma col dito indice della mano sinistra.

È bene, però, imparare a servirsi dei coproggetti, limitando l'uso dei portoggetti a quei casi in cui è necessario schiacciare il materiale, per es., per l'esame degli sputi, nella polpa degli organi, ecc.

*Essiccamento.* — Comunque fatto, il preparato si essicca, generalmente alla fiamma, operando opportunamente per non bruciarlo. La regola sarebbe di essiccarlo a 65 cm. di distanza da una comune fiamma Bunsen, o a 35-40 da una comune fiamma ad alcool; però nella pratica questa regola non si segue. Io, per es., preferisco una piccola fiammella luminosa, e mi regolo dal calore che può sopportare la mano.

Alcuni usano anche ogni tanto poggiare la superficie inferiore del vetrino sull'eminenza tenar per vedere se è troppo caldo, o poco caldo; ma questa pratica non è consigliabile in laboratori di batteriologia, specialmente se si colorano materiali contenenti germi patogeni.

In qualche caso soltanto l'essiccamento si fa alla temperatura ambiente sotto una campana, o in essiccatori ad acido solforico; per es., nel preparare il materiale per la dimostrazione delle ciglia batteriche.

*Fissazione.* — Il materiale seccato deve fissarsi al vetrino, altrimenti quando si aggiunge il colore si distaccano i batteri e muotano nel liquido, sicché può succedere che, nel lavare il preparato, vengano in gran parte portati via coll'acqua di lavaggio.

La fissazione si fa generalmente alla fiamma. Alcuni passano il vetrino per tre volte attraverso a una fiamma Bunsen o ad alcool; ma questo metodo di fissazione non è consigliabile.

Molto meglio è seguire la regola dello Johnne, cioè passare sulla fiamma tre volte il vetrino (se si tratta di un vetrino portoggetti, meglio quattro) alla distanza di circa 1 secondo una volta dall'altra, descrivendo ogni volta un cerchio verticale avente pressochè il diametro di un piede.

Non è necessario sostituire la fissazione alla fiamma con quella mediante alcool assoluto, od alcool ed etere, salvo che si tratti di colorare batteri endocellulari. Quando, per es., si colora il meningococco di Weichselbaum o il gonococco di Neisser nel liquido cefalorachidiano-Funo, nel pus blenorragico l'altro, la fissazione nell'alcool è preferibile, sebbene non indispensabile.

*Colorazione.* — Il materiale seccato e fissato si colora. Per ciò si immerge il vetrino nella soluzione colorante contenuta in una capsuletta fonda (non piana) o in bicchierino di vetro adatto (Becher), quindi si riscalda il liquido sino a che si vedono svolgere dei vapori dalla sua superficie. Più rapidamente si procede così: a mezzo di una bottiglia contagocce in cui si tiene la sostanza colorante, si versano alcune gocce sulla superficie del vetrino

in cui si trova il preparato, e poi questo si avvicina ad una fiamma, che non deve essere molto alta, perchè allora il liquido evapora rapidamente e il colore rimane depositato sul preparato.

Si badi che il liquido colorante copra tutto il preparato, versando non una sola, ma più gocce: così si evita che rimangano sul vetrino dei cerchi di colore depositatosi ai bordi della goccia. Appena si svolgono dei vapori dal liquido colorante, il materiale si può ritenere colorato.

Si può anche riscaldare il liquido in una vaschetta di porcellana, immergervi dentro il vetrino per qualche istante e poi toglierlo; ma tale procedimento è più lungo e quindi meno pratico, nonostante sia certamente il migliore.

Soltanto in qualche caso (per colorazioni differenziali in genere) si porta la temperatura del liquido all'ebollizione. Allora è sempre meglio di porlo in capsule di porcellana, sorvegliando però l'ebollizione per non veder saltar via colore e vetrino. In tutti i modi, in questi casi, servono ottimamente i preparati sui portoggetti, sui quali man mano che il liquido, evapora, se ne versano nuove gocce.

Quando si versa il liquido sui vetrini coproggetti o portoggetti, bisogna avere cura che il liquido non sgoccioli al di sotto del vetrino stesso, perchè, evaporando la goccia sottostante, il colore si depositerebbe sulla superficie inferiore del vetrino imbrattandolo, e potrebbe colare lungo la pinza, sporcando le mani, ciò che è sempre una noia.

*Lavaggio.* — Si butta l'eccesso di colore in un lavandino o in apposito recipiente, e poi si lava il vetrino o sotto un leggero getto di acqua comune, in maniera che non asporti del materiale, oppure in una bacinella contenente acqua pulita.

Si può anche adoperare acqua distillata, ma non è strettamente necessario se non per manipolazioni speciali.

Si noti che quando il preparato si lava sotto un getto d'acqua, va tenuto obliquamente sotto al getto stesso, con la superficie in cui c'è il materiale rivolta in sopra, e che quando si lava in una bacinella non bisogna muovere il preparato di costa, tagliando l'acqua, ma di faccia, spostandolo con movimento di va e vieni, servendosi del vetrino a guisa di paletta.

In tutti e due i casi si abbia cura di lavare bene anche la parte che viene tenuta con le pinze, poichè è sempre lì che si accumula molto colore, il quale poi, togliendo il vetrino stesso dal lavaggio, si diffonde sul preparato, e, nel caso si debba procedere a successivi lavaggi in alcool, tinge rapidamente l'alcool stesso, cosicchè diventa impossibile percepire il momento in cui deve cessare l'azione del decolorante.

Alcune volte si sopprime il lavaggio coll'acqua, e ci si contenta di buttar via l'eccesso di liquido, e di togliere il resto ponendo il vetrino di costa sopra un foglio di carta bibula. Però questo procedimento è sempre segnito da ulteriori manipolazioni, dopo le quali si fa un lavaggio definitivo, e in ogni caso non costituisce la regola. (Vedi metodo del Gram, pag. 224).

Il preparato lavato si pone fra due fogli di carta bibula e si asciuga passando dolcemente l'eminenza tenar o ipotenar o il polpastrello del dito indice della mano destra sul foglio superiore della carta bibula. Poi con una pinza

(o anche con le mani) si prende il preparato e si trasporta in altra parte della carta bibula e si ripete l'operazione.

*Inclusione.* — Se non si deve procedere a décolorazioni, il preparato si riporta definitivamente sulla fiamma, ad opportuna distanza dalla stessa, e si secca del tutto, tenendo sempre rivolta in alto la parte dove sta il materiale. Poi si depone sopra un vetrino portoggetti una goccia di balsamo del Canada diluito con xilolo (1) (3 parti di balsamo e 1 di xilolo), quindi vi si depone sopra il coproggetti con la parte in cui si trova il materiale rivolta in basso, e si comprime leggermente con un'unghia o con una bacchetta di legno o di vetro pulita.

Per preparati da non conservare, invece del balsamo si può usare una goccia d'acqua; però bisogna ricordare che l'acqua evapora presto e quindi una osservazione un po' lunga non si può fare: sarebbe meglio, in tutti i casi, adoperare un po' di glicerina diluita.

*Decolorazione.* — Se invece il materiale deve essere decolorato, si fa sgocciolare il decolorante sulla superficie del vetrino dove si trova il materiale, tenendolo leggermente inclinato sopra una bacinella, oppure si immerge dentro a un recipiente (che può essere un comune vetrino da orologio) in cui si trova il decolorante, tenendolo sempre con le pinze, ove la durata dell'azione del decolorante debba essere breve (decolorazione con soluzioni acide), o lasciandolo cadere dentro, quando tale azione debba durare qualche minuto (decolorazione con alcool).

Quando il decolorante ha agito a sufficienza, il preparato si lava come dopo la prima colorazione e poi nello stesso modo si asciuga.

È utile, nel caso si usi l'alcool come decolorante, smuovere anche un poco il vetrino da orologio, che va posto sopra un fondo bianco (carta bibula, per es.), per vedere quando cessano di svolgersi nuvole di colore: tale operazione è inutile invece quando si usino come decoloranti gli acidi.

*Ricolorazione o colorazione di contrasto.* — Dopo la decolorazione, se si vuole ricolorare il materiale che si è scolorato, si versa sul vetrino seccato qualche goccia di un colore di contrasto, cioè diverso dal primo e si scalda sino ai primi vapori, poi si lava, si asciuga e si include.

Alcune volte è inutile scaldare la soluzione di contrasto, bastando farla agire a freddo: in tal caso l'azione del colore deve durare però sempre un po' di più (qualche minuto).

#### PREPARATI A FRESCO.

Per fare i *preparati a fresco* basta diluire un po' di materiale in una goccia di acqua distillata sterilizzata, o meglio in una goccia di soluzione di cloruro sodico al 0,75 % sterilizzata, sopra un portoggetti e poi coprirlo col coproggetti, spalmando i bordi con paraffina se i preparati debbono durare piuttosto a lungo.

Perciò si scioglie un po' di paraffina in una capsuletta e con un ago caldo piegato a squadra se ne prendono piccole quantità che si stendono lateral-

(1) Il cloroformio e la trementina servono meno bene perchè i preparati si decolorano.

mente alle coste del coproggetti. Per avere una discreta chiusura si badi che il bordo del portoggetti sia asciutto; in ogni caso si ripassi sulla paraffina solidificata l'ago caldo.

PREPARATI A GOCCIA PENDENTE.

Per fare *preparati a goccia pendente*, occorrono dei vetrini portoggetti speciali. Si possono adoperare

1° le camere di Koch (fig. 99), che sono dei portoggetti con un incavo: i bordi del vetrino si spalmano con vasellina (badando di non metterne troppa o

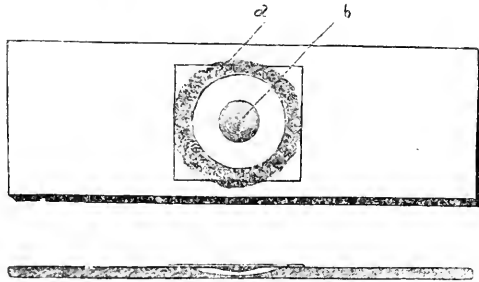


fig. 99.

poca), poi si prepara un coproggetti pulito e nel suo mezzo si depone una ansa del materiale contenente i germi. Quindi si rovescia sul coproggetti il portoggetti in modo che la goccia venga a corrispondere al centro dell'incavo, senza però che ne tocchi il fondo. Poscia con rapido movimento si rovescia il preparato in modo che il vetrino coproggetti rimanga sopra al portoggetti, badando in tale movimento di non fare colare la goccia lungo i bordi dell'incavo. La goccia pendente è ben fatta quando il vetrino coproggetti è ben aderente al portoggetti a mezzo della vasellina (*a*) senza che rimanga alcun punto per cui possa penetrare dell'aria, ciò che porterebbe alla evaporazione della goccia pendente (*b*);

2° le camere di Böttcher (fig. 100) che sono dei portoggetti comuni (*A*) al

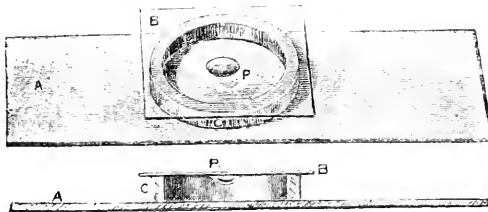


fig. 100.

cui centro si applica, a mezzo di paraffina o di balsamo del Canada, un cerchietto di vetro (*C*) a bordi smerigliati, che fa l'ufficio dell'incavo delle camere di Koch. Del resto la preparazione si fa come per allestire i

preparati nei vetrini di Koch: la goccia (*P*) deve rimanere sospesa sotto il coproggetti (*B*).

3° le camere di Ranvier (fig. 101), che sono vetrini coproggetti centralmente provvisti di una incavatura circolare, che delimita una colonnina

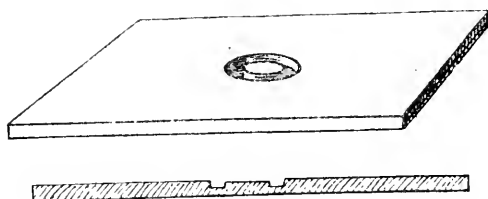


fig. 101.

appena appena più bassa della superficie del vetrino portoggetti. I bordi del vetrino si spalmano di vasellina; sulla colonnina si depone una goccia del liquido in cui si trovano i germi; quindi si pone sul vetrino portoggetti un coproggetti bene pulito, badando che la vasellina formi uno strato continuo tra coproggetti e portoggetti in modo da impedire l'entrata dell'aria.

Fra tutti questi metodi l'ultimo descritto sarebbe il migliore, perchè lo strato del liquido ha uno spessore uniforme: però i germi rimangono sparsi in esso e non è sempre possibile fissare l'attenzione su qualcuno di essi per vedere se sono mobili, mentre usando gli altri due metodi le forme che permettono tale constatazione si trovano presso i bordi della goccia. Dippiù a volte il liquido cola lungo la colonnetta e si riduce a poca cosa, ciò che ostacola le ulteriori osservazioni.

Nella pratica quindi si ricorre al primo procedimento: l'unica difficoltà sta nel mettere a fuoco il preparato, specialmente quando si debbono fare osservazioni a forte ingrandimento, come è quasi sempre il caso.

Alcuni consigliano di trovare il bordo della goccia, osservando prima con deboli ingrandimenti, e stringendo bene il diaframma al di sotto del tavolino del microscopio, poi sostituire l'obbiettivo a forte ingrandimento e mettere a fuoco nello stesso punto, con opportuni movimenti della vite micrometrica.

È però molto meglio mettere a fuoco addirittura il bordo del vetrino là dove si trova la vasellina, poi spostare a poco a poco il vetrino finchè si vede comparire una linea scura o chiara che attraversa il campo microscopico. Quando si è visto questa linea, si ferma il preparato, e si gira la vite micrometrica in un senso o nell'altro, fino a che la linea diventa netta, ossia appare evidente il bordo della goccia. Si fissa bene l'attenzione su quel punto e, se vi sono germi, si vedranno affollarsi lungo la linea stessa. Si adatta allora opportunamente il diaframma in modo da illuminare sufficientemente, ma non troppo, il preparato e poi si sposta ancora il vetrino per osservare i germi all'interno del bordo, poichè al bordo stesso facilmente, se si tratta di germi mobili, si immobilizzano e si aggruppano.

In genere non sarebbe necessario osservare le gocce pendenti, come comunemente si fa, usando obbiettivi a immersione; ma ormai è così diffuso l'uso di adoperare queste lenti, che è impossibile toglierlo.

Ad ogni modo giova ricordare che con l'obb. 8\* Kor. e il 4 ocul. si rivelano benissimo e la disposizione e la mobilità dei germi, vale a dire tutto quello che si può ricavare per i bisogni pratici dai preparati così fatti.

Qualunque sia ad ogni modo la tecnica usata, bisogna ricordare che il materiale da esaminarsi deve essere sospeso in un liquido. Se si tratta di brodocolture, basta disporne un'ansa sul coproggetti; se invece si tratta di patine batteriche, si prelevano con un ago dritto piccole quantità di esse.



si emulsionano in una piccola gocciolina di acqua, posta precedentemente sul vetrino, badando di dare la preferenza all'acqua distillata sterilizzata, o alla soluzione di cloruro sodico al 0,85 %. Si può anche adoperare l'acqua potabile, che in ogni caso è da preferirsi alla comune acqua distillata dei laboratori, la quale è sempre ricca di germi (Günther).

### B. — Morfologia dei batteri.

Per mezzo dell'esame microscopico si studiano la forma, la grandezza, la disposizione, i caratteri del contenuto e del contenente dei germi.

Per lo studio della forma del contenuto e del contenente, si fanno preparati colorati, che si allestiscono col metodo delle colorazioni semplici. Essi servono anche per giudicare della grandezza dei germi: bisogna però indicare il modo d'inclusione di tali preparati, poichè i diametri dei batteri inclusi in acqua sono superiori a quelli degli stessi inclusi in balsamo, stando nel rapporto di tre a due.

Per la disposizione dei germi si possono fare preparati a fresco, ma è assai meglio servirsi dei preparati a goccia pendente (v. pag. 215).

#### 1. GRANDEZZA. — Quanto alla grandezza, quelli rotondi o

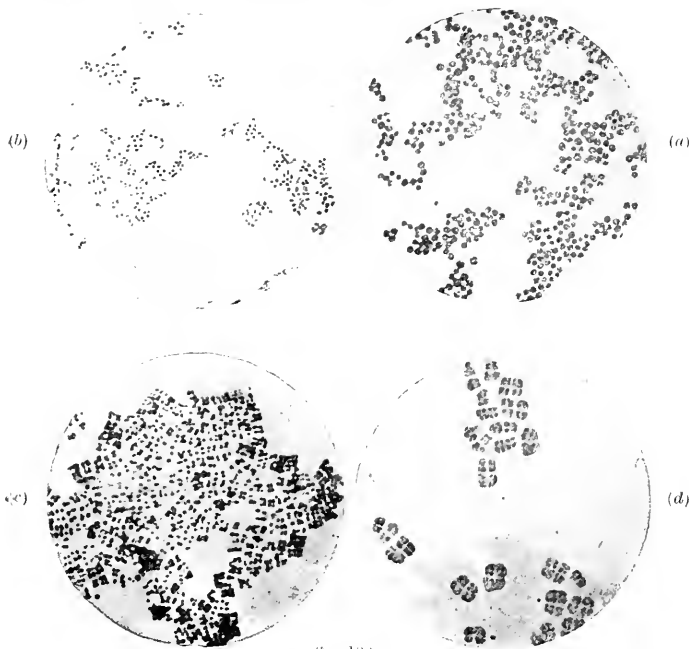


fig. 102.

(da Kolle e Wassermann).

cochi si presentano di una grandezza varia (fig. 102 *a, b, c, d*); vi sono delle forme piccolissime, per es.  $\mu$  0,2, e delle altre grandi sino a  $\mu$  2,3.

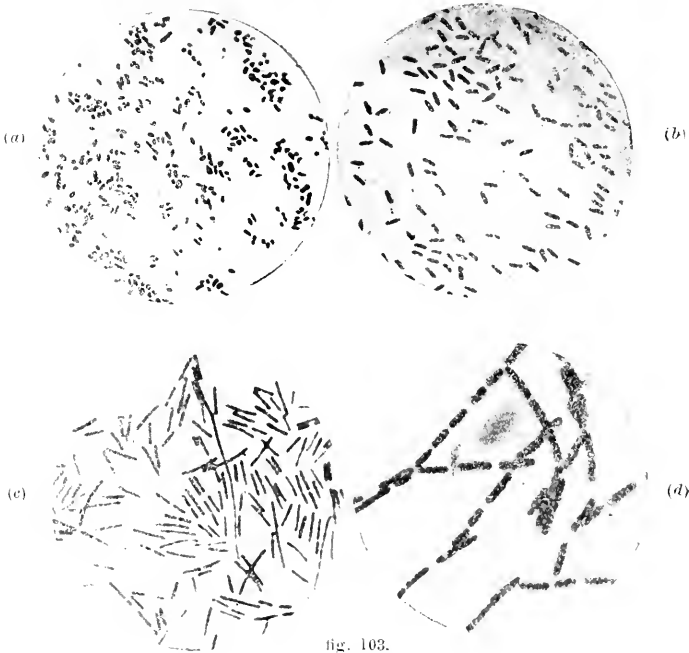


fig. 103.

(*a, b, c* da Kolle e Wassemann; *d* originale).

Anche i bacilli hanno grandezze svariate (fig. 103 *a, b, c, d*): tra i bacilli patogeni il più grande è quello del carbonchio, che misura in lunghezza 2  $\mu$  e il più piccolo è quello dell'influenza che ha dimensioni 10 volte minori; ve ne sono poi dei grandissimi, (fra i banali alcuni lunghi persino 30  $\mu$  e larghi 4  $\mu$ ) e dei piccolissimi, tanto piccoli da essere addirittura invisibili, siccome recenti studi tendono a dimostrare.

Anche le forme curve e spirali hanno dimensioni svariatissime (fig. 104 *a, b*): le forme più grosse si troverebbero tra gli spirilli.

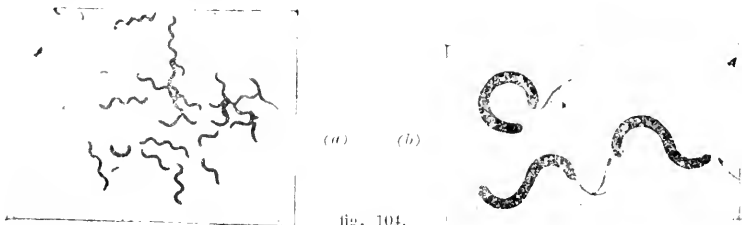


fig. 104.

(da Kolle e Wassemann).

2. FORMA. — La forma dei batteri si può riportare a due tipi principali: la sfera (v. fig. 102), e il cilindro dritto (v. fig. 103) o curvo (v. fig. 104). Se però la forma di ogni batterio si può riportare a uno di questi due tipi, nei casi speciali essa presenta molte modalità: per es. tra i batteri, in alcuni, seminati in terreni nutritivi solidi, primeggiano le forme a diametro lungo, altri rimangono corti e tozzi (coccobatteri) (v. fig. 103-*a*) e altri assumono perfino l'aspetto di filamenti che alcune volte appaiono anche ramificati (v. Parte II, gruppo *streptotrix*).

3. DISPOSIZIONE. — In quanto alla disposizione, le forme rotonde si dispongono per lo più a gruppi di due di più, a catena o ad ammassi (v. fig. 102); le forme allungate sono isolate o disposte a filamenti seriali (v. fig. 103), o anche come i rami di un albero (*streptotrix*).

4. CONTENENTE E CONTENUTO — I caratteri del contenuto e quelli del contenente dei batteri oggetto di studi recentissimi, stanno a dimostrare che la struttura di questi esseri è quella di una cellula di fungo o di alga.

Non si può quindi più intenderli come granuli nel senso di Altmann nè come protoplasmi privi di nuclei, nè come semplici nuclei, come voleva il Bütschli.

Già vari autori avevano affermato che ciascun batterio doveva essere rappresentato da un corpo nucleare rivestito di protoplasma; e si considerava per nucleo tutta la parte del batterio ordinariamente colorabile, e per protoplasma uno straterello periferico invisibile e incolore come le ciglia, per lo più confuso con la capsula.

Certo, a voler negare l'esistenza del nucleo nei batteri, come ancora oggidì si fa da qualunquo, da un lato si urta contro tutte le leggi della biologia, che riconoscono in ogni cellula vivente e moltiplicantesi la presenza di questo corpo, e dall'altro contro i risultati cui ha condotto la chimica biologica, dai quali appare la possibilità di estrarre dal corpo batterico delle nucleine, e in quantità anche rilevante.

D'altro canto, ammessa la presenza del nucleo; non era possibile disconoscere la presenza del protoplasma, poichè non si conoscono cellule viventi e moltiplicantesi rappresentate dal solo nucleo.

a) *Contenente o capsula.* — Già vari autori avevano notato che opportunamente colorando i batteri (specie con alcuni metodi di colorazione delle ciglia) oltre alla così detta membrana batterica (ossia al limite apparente di ciascun microbo che si mette in evidenza con le comuni colorazioni), si poteva colorare uno

strato più o meno spesso, a volte completamente avvolgente (fig. 105) il germe, a volte solo dimostrabile nei punti di unione tra germe e germe.



(da Binaghi)

fig. 105.

(da Bordoni-Uffreduzzi)

E questo strato, che presentava la stessa difficoltà di colorazione delle ciglia, veniva interpretato dagli uni come protoplasma, dagli altri come uno strato perimembranaceo gelatinoso.

E poichè ora si trovava ora no, ma più specialmente era facile rinvenirlo nelle forme parasitarie moltiplicantisi nei tessuti, era la seconda ipotesi quella che incontrava maggior favore; per cui si riteneva o come un rigonfiamento della capsula batterica, o addirittura come una modificazione degli strati periferici del germe sotto l'azione dei liquidi batteriolitici.

Le ricerche del Fischer fatte per mezzo della plasmolisi con soluzione di cloruro sodico al 25 " o nitrato potassico al 5 " dimostravano però la presenza di uno strato più interno rispetto a quello gelatinoso, al quale strato più interno spettava il nome di membrana.

Bisognerebbe quindi a rigor di termini interpretare la membrana batterica costituita di due strati, di cui l'interno costantemente visibile e ben colorabile e l'esterno difficilmente tingibile.

A questi due strati della membrana il Kemstler e il Busquet diedero il nome di strato cuticolare e di strato gelatinoso, e così va intesa la membrana batterica, secondo i recentissimi studi del Grimme.

b) *Contenuto o nucleo del Bütschli.* — Già fin dalle ricerche di quegli autori che andavano trovando nel contenuto dei batteri dei corpi ora colorabili con un colore ora no, dei punti tingi-

bili con i colori nucleari, dei tratti diportantisi in un modo piuttosto che in un altro, rispetto a determinati processi di colorazione, si comprese che il corpo batterico non poteva essere soltanto costituito da una massa alveolare spongiosa più densa all'interno che all'esterno, come voleva il Biitschli.

E oggidì che gli studi sono tanto progrediti, si può affermare esistere nel contenuto batterico gli identici elementi che esistono nel corpo di tutte le cellule vegetali e specialmente delle alghe e dei funghi.

All'interno dello strato cuticolare della membrana si riconosce la presenza del protoplasma (citoplasma o protoplasma periferico) e nel contenuto sono dimostrabili grassi (fig. 106 *a*).

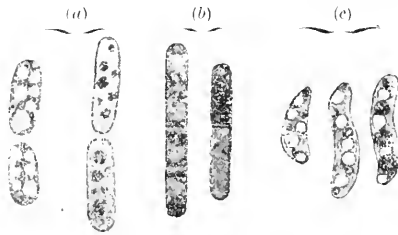


fig. 106 (da Grümme)

glicogeno (*b*), granuli albuminoidei o corpuscoli metacromatici di Babes, (punti oscuri nella fig. 106-*c*) interpretati come nuclei dal Nakanishi (punti chiari nella fig. 106-*c*) più ancora un corpo speciale, che difficilmente si riesce a vedere nelle cellule in attività di sviluppo, ma che però si può dimostrare in quelle in riposo e in quelle in sporificazione, e che sarebbe il nucleo scoperto dal Meyer.

Quindi, a voler oggidì dare una definizione della cellula batterica, bisognerebbe dire che si tratta di una cellula vegetale con membrana bistratificata, con un nucleo, i suoi vacuoli, e gli alimenti di riserva.

LA PRESENZA DELLA MEMBRANA si dimostra coi metodi di ricerca della capsula batterica, capsula che si era finora distinta in *falsa*, *reale* e *vera*: intendendo per falsa quella che si formava nell'interno dei tessuti per una supposta giustapposizione di sostanze albuminoidee o colloidi; per vera quella che accompagna i germi non solo nei tessuti ma anche nelle culture; per reale quella di cui sono forniti ordinariamente alcuni germi o che possono anche formare quando sono coltivati in condizioni speciali, come è per il *b. del carbonchio* in liquidi contenenti arsenico: questa specie di capsula starebbe a indicare un organo di protezione.

LA DIMOSTRAZIONE DELLA CAPSULA viene fatta con diversi procedimenti, tra cui i più alla mano erano e sono i seguenti:

a) *per la colorazione della capsula falsa e reale.*

1. Il preparato seccato e fissato si immerge in acido acetico 4-2 % per 4-5 minuti; poi si lava e si colora a caldo in violetto di Ehrlich; si lava in alcool forte, poi in acqua; si colora a caldo in cosina sol. acq. 1 %; si lava e si include.

2. Sul preparato, seccato e fissato, si versa una soluzione alcoolica satura di violetto di genziana; si scaldia leggermente, badando che l'alcool non prenda fuoco, e che non evapori troppo, perchè allora rimane una patina di colore sul preparato, che ne resta completamente coperto; si lava rapidamente sotto un getto di acqua; si asciuga subito con carta bibula, si secca e si include: le capsule rimangono colorate in viola pallido o scolorate, ma bene visibili: il corpo batterico rimane colorato in violetto.

3. Sul preparato seccato e fissato si versano alcune gocce di una soluzione acetica di Dahlia (acido acetico cmc. 50, acqua 100 e violetto di Dahlia a saturazione) e si scaldia; si lava, si secca e si osserva.

b) *colorazione della capsula vera.*

È facile dimostrare, con qualunque colorazione, specialmente adoperando soluzioni mordenzate, (fucsina carbolica diluita) la presenza dello strato cuticolare; quella dello strato gelatinoso non si dimostra che con metodi estremamente difficoltosi, come quello del Bunge per la colorazione delle riglia.

Si può tentare anche il procedimento del Boni, che sarebbe più alla mano, ma che per quanto ci consta non riesce così facilmente come dice l'autore.

A tal uopo si diluisce il materiale in una goccia di albume di uovo glicerinato (un albume in 50 cmc. di glicerina con 2 gocce di formalina) si secca e si fissa il preparato; si colora col liquido di Ziehl per 20-30 secondi; si lava in acqua; si asciuga e poi si ricolora per 4-6 minuti con liquido di Löffler; si lava ancora, si asciuga e si monta in balsamo.

LA PRESENZA DI UN CONTENUTO DIFFERENZIATO NELLA CELLULA BATTERICA si studia per mezzo di una serie di colorazioni più o meno complesse.

Recenti studi hanno dimostrato che nei batteri giovani con la formol-fucsina (Grimme) si colora quella parte del protoplasma che prende il nome di citoplasma e che nei batteri vecchi degenerati si riduce ad ammassi, a punti, che si alternano con zone di grasso scolorate. Queste poi si colorano col sudan III in soluzione alcoolica, mentre rimangono scolorati i vacuoli. Con il iodio poi si mette bene in evidenza il glicogeno al centro e ai poli delle cellule, e mediante opportuni reattivi microchimici, si riesce a dimostrare che i così detti corpuscoli metacromatici del Babes sono sostanze albuminoidee.

Tutti questi particolari nel contenuto del germe ordinariamente però non si mettono in evidenza, perchè se essi hanno importanza per uno studio morfologico fino, poco o nulla importano per la pratica diagnostica.

Si usano invece a questo scopo dei processi di colorazione più o meno complessi, cioè:

1° *Colorazione col metodo del Gram.* — Si dice che resistono al metodo del Gram quei germi che rimangono colorati in violetto o ben nero; che non resistono quelli che si scolorano o si colorano col colore di contrasto; però ve n'è sempre qualcuno che non è ben chiaro se si diporti sempre in un modo o nell'altro; per cui, volendo, per es., in riguardo al metodo del Gram, distinguere i germi in due gruppi, non è possibile, essendovi il b. del carbonchio sintomatico, quello dell'edema maligno, quello della peste (!) e quello della morva (!) che si diportano in modo dubbio, sebbene si tenda dai più ad ammettere che si diportino negativamente (e così noi crediamo) come risulta dal seguente quadro:

TAB. 9.

Resistono ossia rimangono colorati in nero o bleu nero	Si scolorano; ma qualche autore ritiene che possano rimanere colorati	Non resistono ossia si scolorano o si colo- rano con la soluzione di contrasto
Actinomyces bovis	B. carbonchio sintomatico	B. tifo
B. tubercolosi { umana	B. edema maligno	B. coli
{ aviaria	B. peste	B. influenza
B. lepra	B. morva	Vibrione colerigeno
B. differite		Spirillo febbre ricorrente
B. carbonchio ematico		Gonococco Neisser
B. tetano		
Stafilococco piogene		
Diplococco della polmonite		

In genere si può quindi ritenere sempre in riguardo ai germi patogeni, che:

1° *resistono*: tutti i cocchi meno il *gonococco*; i bacilli (sporigeni) meno *l'edema* e il *carb. sintomatico*; le streptotrix, non la *morra* e la *peste*;

2° *non resistono*: tutti i batteri (nel senso di Lehmann-Neumann) e tutti i vibrioni, e lo spirillo di Obermeyer.

Questo procedimento si ritiene specifico della membrana batterica, ma poi si è veduto che nella colorazione dei blastomiceti, anche dopo aver digerito la membrana, il colore rimane lo stesso: così pure l'opinione che esso fosse una colorazione specifica del glicogeno è caduta, perchè estraendo questo dalle cellule colorate, il colore rimane lo stesso. Trattasi di una colorazione del citoplasma batterico, anzi di quelle parti del medesimo che è possibile distruggere col disseccamento e con la prolungata azione del calore. Queste sostanze ancora ignote libererebbero l'acido dalla pararosanilina, la quale si combinerebbe stabilmente coll'iodio e darebbe luogo con essa a un corpo non attaccabile né dall'*HCl* né dalla potassa all'1% né dal carbonato sodico al 5% e difficilmente solubile nell'alcool.

A parte l'influenza del processo di fissazione la quale realmente non esiste, è certo che i germi resistono più o meno a seconda del materiale da cui provengono: così quelli che provengono dal pus si scolorano meno facilmente di quelli che provengono da culture e lo stesso accade se si usano soluzioni molto concentrate e si fanno agire a lungo: in genere i germi giovani in attività di sviluppo sono più resistenti, meno quelli nello stato di riposo, e meno ancora quelli in via di degenerazione.

Questi ultimi anzi si possono, secondo Grimme, riconoscere colorandoli col Gram, sia



fig. 107 (da Grimme).

perchè rimangono colorati a tratti, o ai soli poli, sicchè appaiono come articolati, (fig. 107) sia perchè basta appena far agire qualche secondo l'alcool perchè si decolorino del tutto.

Per colorare col metodo del Gram si opera così:

<i>Secondo Gram.</i>	<i>Secondo noi.</i>	<i>Secondo Grimme.</i>
1. si immerge in liquido di Ehrlich e si riscalda sino ai primi vapori.	1.  sino a che il liquido bolle per 1 minuto e in recipiente coperto.	1. si immerge in liquido di Ehrlich bollente per 2 secondi.
2. si toglie l'eccesso di colore sgocciolando il vetrino su carta bibula.	2. Idem.	
3. si sgocciola sopra del liquido del Lugol per 30". 1 minuto sino a colorito bruno del preparato e poi si lava in acqua.	3. si immerge in liquido di Lugol, ove si tiene per 30 secondi e si lava.	3. si immerge in liquido di Lugol per 2 primi.
4. si sgocciola sopra dell'alcool assoluto: si lava in acqua, si secca.	4. si immerge in alcool assoluto per pochi secondi, si lava in acqua, si ricolora sempre con colore di contrasto in sol. aeq. di vesuvina 1° <sub>6</sub> , si lava, si secca, ecc.	4. si immerge in alcool assoluto per 1 primo.

Il metodo del Gram ha però subito molte modificazioni, perchè gli autori cercarono di far resistere stabilmente tutti quei germi che resistono poco, o male, e che secondo alcuni si dipartano positivamente, secondo altri negativamente. Così si sono indicati procedimenti del Gram con sostituzione della sostanza colorante (violetto fenico secondo Mérienx; bleu fenico od ammoniacale secondo Kühne; tionina fenica secondo Nicolle) o con sostituzione dei decoloranti (olio di anilina secondo Weigert, alcool acetonato secondo Nicolle, alcool cloridrico secondo Günther, acido picrico secondo Claudius, ecc.).

Dopo le ricerche fatte sul suo meccanismo essendo però accertato che per la buona riuscita del metodo è assolutamente necessario usare quei colori che hanno maggiore affinità coll'iodio e quindi quelli che appartengono al gruppo delle pararosaline (violetto di genziana, violetto di metile, bleu vittoria) tutte le modificazioni con sostituzione di fucsina, bleu di metilene, vesuvina debbono assolutamente scartarsi. D'altro canto si è visto che l'azione solvente degli alcool sulla sostanza colorante che si forma e quindi l'azione decolorante decresce man mano che ci allontaniamo dall'alcool etilico per avvicinarci ad alcool di peso molecolare superiore: quindi tutti quei metodi in cui l'alcool etilico è sostituito sono meno adatti.

La sostituzione dell'alcool con altre sostanze si può applicare però nel caso di ricerca dei bacilli nei tessuti, dove altre cause possono influire perchè l'alcool non espliciti la sua azione, o la espliciti troppo potentemente: servono bene tra gli altri quello di Weigert e quello di Claudius.

Ad ogni modo dopo la decolorazione è utile praticare una seconda colorazione con un colore di contrasto giallo o rosa, perchè quei germi che non hanno resistito si colorano con questa, e quindi si rendono visibili. Anche quelli che hanno trattenuto il colore debolmente, e che quindi parrebbero resistere, prendono il nuovo colore e così dimostrano un comportamento negativo rispetto al Gram.

D'altro canto, con le colorazioni di contrasto bene spesso si colora anche la capsula (falsa), per cui il germe assume caratteri che lo rendono più facilmente identificabile.

2<sup>a</sup> *Colorazione dei granuli metacromatici.* — I granuli metacromatici, o albuminoidi, sono molto importanti a cercarsi, perchè esistendo in certi germi patogeni, come il bacillo della difterite, sono di grande ausilio alla diagnosi estemporanea.

Si conoscono metodi di ricerca generali dei medesimi, fra cui quello più recente del Grimme: però, dal punto di vista diagnostico, va attribuita



maggior importanza a quei metodi, che servono a metterli in evidenza in singoli germi. E per ora tali metodi si riferiscono solo ai batteri della difterite e del tifo.

Per il b. difterico si conoscono il metodo del Crouch, del Bronstein, del Neisser, del Piorkowski, del Fischer, tra i quali il migliore e il più generalmente usato è il procedimento del Neisser, dacchè gli altri colorano i granuli non sempre in modo ben differenziabile dal resto del protoplasma.

Il metodo del Neisser consisteva originalmente nel trattare, per 1-3 secondi, il preparato seccato e fissato a freddo con una soluzione idro-alcoolico-acetica di bleu di metilene e dopo lavaggio in acqua passarlo in soluzione acquosa di vesuvina per 3-5 secondi, quindi lavarlo essiccarlo e includerlo.

Le due soluzioni sono le seguenti:

Turchino di metilene . . . . .	gr.	1	} A
Alcool a 96° . . . . .	cmc.	20	
Acido acetico . . . . .	»	50	
Acqua distillata . . . . .	»	950	
Vesuvina . . . . .	gr.	2	} B
Acqua distillata . . . . .	»	1000	

Però è bene ogni volta che si fanno tali liquidi stabilire la durata dell'azione di ambedue, poichè i limiti indicati dall'autore non sempre corrispondono. L'esperienza ci ha insegnato che in ogni caso è meglio fare agire 30 secondi la soluzione A e 45 la soluzione B.

Sotto il campo microscopico si vedono i granuli colorati in bleu o bleu nero e il corpo dei bacilli colorato in giallo chiaro (fig. 108) il corpo del bacillo è qui invece meno scuro dei poli.

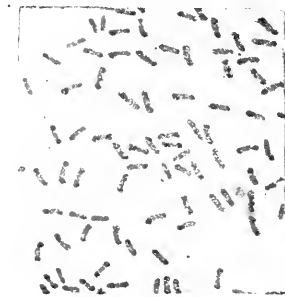


fig. 108.

Per il b. del tifo si conosce il semplicissimo metodo del Migula che, secondo l'Autore, avrebbe una certa elezione per i granuli metacromatici di questo germe, ma che, posso assicurare, difficilmente riesce.

Il materiale, proveniente da coltura su patate a reazione leggermente acida, si distende sul vetrino, si secca, si fissa e si colora con bleu di metilene in soluzione idro-alcoolica a freddo per pochi istanti. Si lava, si essicca e si include.

3° *Colorazione del grasso (colorazioni specifiche dei bacilli della tubercolosi).*  
 — Per la dimostrazione del grasso nel corpo dei batteri, oltrechè per mezzo del bleu di metilene e del sudan III, col quale si colorano il protoplasma batterico in bleu e i grassi in rosa, sono stati adoperati dei procedimenti speciali, che hanno particolare importanza diagnostica per la ricerca del bacillo della tubercolosi.

Questi procedimenti perfezionati nelle singole particolarità di tecnica consistono nel colorare a caldo i batteri, seccati e fissati sui vetrini, con un colore mordenzato, sia esso il violetto di genziana all'acqua di anilina di Ehrlich o la fucsina fenica di Ziehl, e poi nel decolorare con una soluzione acida (l'acido nitrico nel caso si colori con il liquido di Ehrlich, l'acido solforico nel caso si colori col liquido di Ziehl).

Alla decolorazione si fa seguire il lavaggio nell'alcool e nell'acqua e una colorazione di contrasto (eosina se si è prima colorato col violetto di genziana, bleu di metilene se si è colorato colla fucsina). Con questi trattamenti i batteri che posseggono grande quantità di grassi rimangono colorati in violetto o in rosso, mentre gli altri, insieme col materiale in cui si trovano, prendono il colore di contrasto.

Dagli studi fatti sulla resistenza agli acidi dei vari bacilli colorati, gli autori non sarebbero però tutti d'accordo nell'ammettere che si tratti di una colorazione assolutamente specifica dei bacilli della tubercolosi.

La resistenza alla decolorazione, secondo Ehrlich, sarebbe legata alla impenetrabilità della membrana, secondo l'Alberschlag a sostanze albuminoidee speciali e al celluloso, secondo altri a sostanze albuminasimili aventi la reazione della chitina, secondo Fischer e Pappenheim sarebbe dovuta a un fenomeno fisico.

Però oramai si ammette trattarsi di una resistenza inerente a grassi speciali: il Koch è di questa opinione, anzi egli ritiene che questi grassi formino uno strato protettivo attorno al germe, e così l'Unna e il Klebs. Difatti per mezzo di procedimenti chimici con potassa, o soda, xilolo, etere, ecc., è possibile estrarre dai bacilli una sostanza che ha precisamente tale potere: il De Giava è riuscito, mediante il trattamento con alcool, etere di petrolio e potassa, ad estrarla dal bacillo della tubercolosi, e in questo istituto si è ottenuto uguale risultato trattando nello stesso modo il bacillo pseudotubercolare del latte e del burro (Carnevali).

Solo i recenti studi del Grimme, fatti su bacilli che resistono all'azione degli acidi, compreso il bacillo della tubercolosi, tenderebbero a dimostrare che si tratti di una sostanza solubile nello xilolo, nell'alcool a 80°, nell'acido cloridico al 5%, nell'acqua di Javelle, pochissimo solubile nell'etere solforico, molto nell'etere di petrolio. Quindi secondo il Grimme, non si tratterebbe di una sostanza grassa, non foss'altro perchè dopo il trattamento con l'acqua di Javelle per  $\frac{1}{2}$  ora a 1 ora, si mettono ancora in evidenza i grassi nell'interno del batterio, nè si tratterebbe di sostanza albuminoide, perchè la tripsina non la distrugge ecc.

Con tutto ciò, sino a prova contraria, la colorazione dei bacilli della tubercolosi, sarà da noi intesa come una colorazione di speciali grassi che imbibiscono lo strato gelatinoso della membrana.

Le condizioni per mettere in evidenza questi grassi variano da germe a germe; non tutti cioè, una volta che si sono colorati, resistono ugualmente all'azione delle soluzioni decoloranti. La pratica ha dimostrato che fra tutti i germi il più resistente è quello della tubercolosi; resistono meno il b. della lepra, i pseudotubercolari, i bacilli dello smegma, specialmente usando

il metodo Koch-Ehrlich, che può ritenersi quasi specifico. Si è anche visto che tra i germi della stessa specie i più resistenti sono i più giovani, quelli in maggior attività di sviluppo, e che gli altri lo sono meno. Si è del pari veduto che la composizione dei substrati può aumentare o diminuire tale resistenza (quelli ricchi di grasso, per es., l'aumentano), che dopo ripetuti passaggi da substrato a substrato, e quest'è precisamente quello che succede passando da tubo a tubo la tubercolosi per ottenere le brodculture intorbideate col metodo di Arloing, tale proprietà diminuisce; che alcuni l'acquistano in colture in cui si trovano i germi della tubercolosi, come il carbonchio sintomatico; che i bacilli della tubercolosi man mano che si riducono alla forma streptotricea, la perdono, ecc.

Varie dunque sono le condizioni nelle quali la proprietà di resistere agli acidi si rendono ora più manifeste, ora meno; nè ancora se ne può dare con sicurezza un elenco razionale.

Volendo ad ogni modo indicare delle regole generali, si può dire che la resistenza dipende dalla tecnica seguita nella colorazione e nella scolorazione, dalla età e dalla provenienza dei batteri.

In quanto alla tecnica, occorre ricordare: che il liquido colorante, specie se si adopera la fucsina fenica, perchè venga assunto bene, è necessario agisca a caldo (meglio fare bollire la soluzione stessa, secondo Grimme) e che il liquido scolorante agisca a freddo: se questo agisce a caldo si ottiene la scolorazione.

I procedimenti che a tal uopo si seguono sono i seguenti:

Il preparato fissato e seccato si colora con procedimenti rapidissimi, o rapidi.

Tra i procedimenti rapidissimi (poco consigliabili del resto) vanno ricordati quelli

1° di *Fränckel*. — Il preparato si colora con fucsina carbolica per 5 minuti a caldo e poi, lavatolo, si tiene per 1 minuto nella soluzione decolorante-colorante di *Fränckel* (alcool a 90° cmc. 50; acqua anilina cmc. 30;  $\text{HNO}_3$  cmc. 20; soluzione alcoolica satura di bleu di metile q. b. per avere una tinta bleu intensa); si lava quindi, si essicca e si monta.

2° di *Gabbet*. — Il preparato si colora con fucsina carbolica a caldo per 1-5 minuti, si lava e si immerge per 30 secondi in soluzione di bleu di metilene al 2% in acido solforico al 26%. si lava, si secca e si monta.

Tra i procedimenti rapidi vanno citati quelli di *Ziehl-Neelsen*, che è il più alla mano, e quello di *Koch-Ehrlich*, che è il più specifico.

1° secondo *Ziehl-Neelsen* il preparato si colora con fucsina carbolica a caldo (meglio facendo bollire un momento il liquido) si lava in acqua, si passa rapidamente in acido solforico al 20% (mai adoperare l'acido nitrico che precipita e decolora la fucsina), si lava in acqua, si colora a caldo sino ai primi vapori con soluzione idroalcolica di bleu di metilene, si lava in acqua, si essicca e si monta.

Questo procedimento, così come l'ho descritto, non è quello originale dello *Ziehl-Neelsen*: in questo si intercala un lavaggio in alcool dopo la prima colorazione, lavaggio che è perfettamente inutile; dippiù i tempi di durata delle singole manipolazioni sono diversi.

Però l'esperienza mi ha dimostrato che è assolutamente preferibile eseguirlo nel modo descritto.

2° secondo *Koch-Ehrlich* il preparato si colora con violetto di genziana all'olio di anilina caldo o bollente, si lava in acqua e poi in alcool fino a che si svolgono nuvole di colore, si passa rapidamente in acido nitrico al 33%, si lava in acqua, si colora a caldo, sino ai primi vapori, con vesuvina in soluzione acquosa 1% od in eosina in soluzione idroalcolica 1%.

Naturalmente se si tratta di bacilli che resistono alla decolorazione meno di quelli di *Koch*, bisogna fare più diluita la soluzione nitrica (per il bacillo della lepra, per es., bisogna ridurla al 10%) o limitare la decolorazione al solo passaggio nell'alcool (b. della smegma).

## CAP. II.

PROPRIETÀ BIOLOGICHE DEI BATTERI, DIMOSTRABILI  
COLL'ESAME MICROSCOPICO E COLTURALE.

I batteri manifestano la loro vita attiva in modi diversi, cioè: col muoversi, col moltiplicarsi, col nutrirsi, per mezzo di attività chimiche.

## A. — Movimento dei batteri.

In genere i batteri si distinguono in due gruppi: quello dei batteri immobili e quello dei mobili.

I cocchi, salvo qualche eccezione, si ritengono immobili; i vibrioni e gli spirilli quasi tutti mobili, e i batteri e i bacilli in parte mobili, in parte immobili.

Tra i patogeni sono immobili i cocchi, i bacilli della tubercolosi, della difterite, della peste, della morva, del carbonchio; sono mobili i bacilli del tifo, del tetano, dell'edema maligno, del carbonchio sintomatico.

E il movimento dei germi si distingue in movimento serpentino o vermicolare (b. del tifo), a spira o a succhiello (vibrioni), rotatorio (b. carbonchio sintomatico [?]).

Nessuno di questi movimenti va confuso con quello di cui sono dotate tutte le particelle solide finissime sospese in un liquido e che dicesi movimento browniano o improprio: di questo genere di movimento sono dotati tutti i germi immobili.

La mobilità dei germi generalmente si studia a fresco per mezzo di preparati a goccia pendente. Per mezzo di preparati colorati si mettono in evidenza gli organi del movimento ossia le ciglia.

I preparati a goccia pendente vanno fatti in modo diverso, a seconda che si tratta di germi che si sviluppano bene in presenza dell'ossigeno atmosferico o di germi che si sviluppano meglio o esclusivamente fuori del contatto del medesimo.

Per studiare il movimento dei germi aerobici a fresco, si praticano colture in brodo, con le quali si fanno delle comuni gocce pendenti, avendo però l'avvertenza di far aderire bene il vetrino coproggetti al portoggetti mediante vasellina, per evitare che rimanga qualche punto di comunicazione con l'interno della vaschetta e che quindi la goccia evapori. Inoltre occorre tenere il preparato in condizioni adatte di temperatura, cioè questa non deve essere nè troppo bassa, nè troppo alta; perciò nella stagione invernale è utile mettere le gocce pendenti per un certo tempo nel termostato a 37° e poi osservarle. In ogni caso si può usare un tavolino riscaldante (V. Protozoologia fig. 69) o la camera dello Zeiss (V. Microscopia pag. 15).

Per studiare il *movimento dei germi anaerobici*, la goccia pendente va posta in cellette, nelle quali sia possibile porre una sostanza che assorba l'ossigeno o scacciare l'aria sostituendovi un gas, oppure si possa fare l'una e l'altra cosa.

Dei primi due procedimenti, come risulta anche dai recenti studi del De Grandi, il migliore è realmente il secondo, poichè tutti i mezzi chimici adatti all'assorbimento dell'ossigeno sono troppo lenti. Secondo questo A. si prende una camera di Bütteher, (fig. 109) il cui cerchietto di vetro in un punto del bordo inferiore abbia una scannellatura a tutto spessore. Fatta la goccia pendente, si applica il vetrino coproggetti sul bordo superiore dell'anello della camera con balsamo del Canada e si introduce dell'H dal foro dell'anello. Dopo 4-10 minuti, mentre ancora funziona il getto dell'H, si versa in corrispondenza del foro una goccia di balsamo denso per occludere il foro stesso.

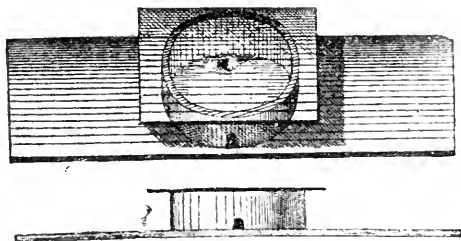


fig. 109 (da De-Grandi).

È però meglio, come faccio io, adoperare come portoggetti un vetrino di Ranvier con una intaccatura laterale (vetrino Ranvier-Prazmowski, fig. 110 A): sul bordo si salda il cerchietto di vetro.

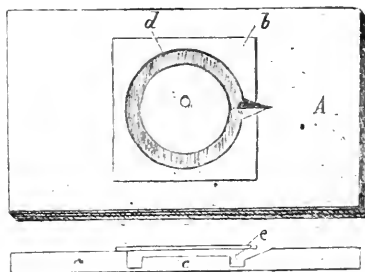


fig. 110 (da Hüppe).

che non c'è bisogno abbia un foro, perchè l'idrogeno si fa entrare dall'intaccatura (e) fatta sul portoggetti, dopo avere, per la stessa intaccatura, introdotto un po' di pirogallato potassico,

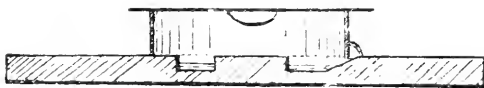


fig. 111.

che viene a trovarsi nello scavo circolare *td*: la chiusura si fa nello stesso modo che col metodo De Grandi.

Si ottengono così veramente delle ottime gocce pendenti (fig. 111), in condizioni di anaerobiosi sufficienti per giudicare della mobilità o non dei batteri semenzati

Sino a poco tempo fa si riteneva che i batteri si potessero distinguere in due gruppi, quello dei germi cigliati e quello dei germi sprovvisti di ciglia, gruppi in tutto corrispondenti a quelli dei germi mobili e dei germi immobili: però, pare che non si possa in tutti i casi far sinonimo di movimento la presenza di ciglia, tanto è vero che alcuni pazienti osservatori avrebbero dimostrate le ciglia anche in tutte o quasi tutte le forme immobili del genere *coccus* e quindi negli stafilococchi e in tutte le sarcine, nonché in alcuni vibrioni o spirilli riconosciuti del tutto immobili.

Del resto, anche nei batteri cigliati, in determinate epoche della loro vita le ciglia o scompaiono o si riuniscono, formando i così detti flagelli (per es. nel tetano [De Grandi] quando il germe invecchia prima di sporificare).

Ad ogni modo, in base al numero ed alla disposizione delle ciglia attorno al corpo batterico, essi, secondo Masea, (fig. 112) si distinguono in:

monotrichi (*a*) quando posseggono un ciglio a un estremo;

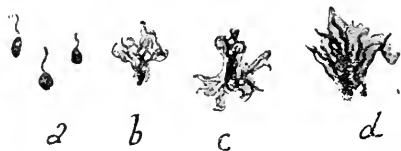


fig. 112.

anfitrichi (*b*) quando posseggono un ciuffo di ciglia a due estremi;

lofotrichi (*c*) quando posseggono un solo ciuffo ad un estremo;

peritrichi (*d*) quando tutto il loro corpo è rivestito di ciglia.

Tra i germi patogeni sarebbero:

Tab. 10.

Monotrichi	Anfitrichi	Lofotrichi	Peritrichi
Colera B. coli (?)	Nessuno	Colera (?)	Tifo Tetano Carbonchio sintomatico Edema maligno

La dimostrazione delle ciglia nei batteri solo in pochi casi è relativamente facile. Riesce per es. con una qualsiasi colorazione semplice, adoperando il liquido del Ziehl, quando si colorano i bacilli della patina della lingua o i vibrioni colerici nelle feci dei colerosi, in questo secondo caso forse per un'azione mordenzante speciale dei succhi intestinali, che permette poi la fissazione del colore.

Ma in tutti gli altri casi, quando cioè si tratta di germi provenienti da colture, la colorazione della ciglia è uno dei problemi più difficili e più squisiti della tecnica batteriologica; prova ne sia che sono noti e raccomandati una serie di metodi, ognuno dei quali non riesce sempre, neppur dopo un'esperienza personale lunga e laboriosa.

La buona riuscita del preparato è legata a una serie di condizioni, fra le quali sono note le seguenti:

a) il materiale è preferibile provenga da colture in agar non glicerinato di recente preparazione, di colore ambra trasparente, non contenente più del 5<sup>o</sup>/<sub>100</sub> di cloruro sodico;

b) le colture devono essere recenti, provenienti da altro agar e da patine lisce, sottili, più o meno diffuse;

c) esse debbono esser tenute a una adatta temperatura di sviluppo: in genere si sceglie la temperatura di 37°: ma non è detto che per tutti sia la più idonea, anzi, stando a osservazioni recenti, parrebbe la più adatta quella di 18°;

d) il materiale deve esser prelevato con delicatezza mediante l'ago di platino dritto e diluito in acqua distillata senza rimescolarlo;

e) il vetrino coproggetti deve esser perfettamente sgrassato e privo di qualunque impurità, che determini poi la precipitazione del colore;

f) l'essiccamento e la fissazione devono esser fatti delicatamente;

g) il materiale, prima della colorazione, dev'esser trattato con un liquido mordenzante, o il liquido mordenzante deve agire insieme al colorante.

Di tutti i procedimenti descritti da vari autori e riportati nei trattati nessuno riesce mai la prima volta che si pratica, nè costantemente in tutti i casi.

Di recente soltanto, sono stati descritti due metodi (forse fondati ambedue sulla formazione di una lacca tintoria sulle ciglia come col metodo del Löffler, del quale rappresentano veri perfezionamenti): sono questi il metodo del De-Rossi e il metodo Cerrito.

Ambedue gli autori indicano due procedimenti; l'uno lento che è naturalmente il consigliato e il preferibile, e l'altro rapido.

Ecco in paragone i vari tempi dei due processi.

#### SECONDO IL DE-ROSSI

##### 1° Pulizia del vetrino.

In alcool e poi in acqua, quindi ancora in alcool e benzina, poi strofinamento con un pannolino e finalmente passaggio per 40-50 volte sulla fiamma Bunsen.

#### SECONDO IL CERRITO

Bollitura in potassa al 10% per 10 minuti; lavaggio in acqua comune e poi in acido cloridrico al 10% 15 minuti; lavaggio in acqua comune e poi in acqua distillata: pulizia con panno di tela grossolano.

*Il vetrino è pronto quando una goccia d'acqua si spande in forma circolare sullo stesso.*

## 2° Preparazione del materiale batterico.

Un'ansa di coltura su agar (di materiale che si dimostra mobile all'esame in goccia pendente) si pone in un vetrino da orologio contenente 1 emc. di H<sub>2</sub>O distillata; dal centro del menisco si preleva un'ansa che si pone sopra il vetrino pulito e si essicca in un essiccatore ad H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> o all'aria.

Un'ansa di coltura in agar si pone in 2 emc. di acqua distillata lasciando a sè la emulsione sinchè si sedimenta: quindi se ne prende un'ansa, si pone sopra il vetrino pulito e si secca in essiccatore ad acido solforico o all'aria.

*Il materiale è pronto quando si forma un anello bianco opalino sul vetrino.*

## 3° Mordenzatura e colorazione del preparato.

Sol. mordenzante e colorante:

acido fenico . . . . .	gr. 50
acqua distillata . . . . .	» 1000
si scioglie e si aggiunge	
acido tannico . . . . .	» 40
poi si aggiunge una solu-	
zione di fucsina basica »	25
in alcool assoluto . . . . .	emc. 100

A questa soluzione si aggiungono determinate quantità di una soluzione di idrato potassico 1% sino a che (l'aggiunta si fa a gocce a 10-20 emc. del liquido) agitando, il liquido che cola lungo le pareti, lascia un precipitato polverulento.

Si filtra e rifultra sempre sullo stesso filtro, sino a che il liquido rimane limpido per qualche minuto.

Si pongono quindi 4-5 gocce del liquido colorante sui vetrini: esso diviene prima iridescente, poi si intorbida, quindi si forma il precipitato: nel momento in cui questo si forma le ciglia si colorano. Si getta quindi il liquido, si lava, si secca, si include.

(Recentemente il Valenti ha trovato che il metodo riesce pure non aggiungendo potassa al liquido del De Rossi. Indubbiamente però l'A. ha una pratica personale in questi procedimenti di colorazione, per cui facilmente ottiene buoni preparati, tant'è vero che anche col metodo originale del De Rossi dice di avere ottenuto ottimi risultati, che ad altri o non riesce bene o riesce difficilmente, come è avvenuto allo stesso Carraro).

Secondo Gemelli si ottengono buone colorazioni di ciglia, col metodo seguente. Si preparano queste due soluzioni:

a) {	Permanganato di potassio . . . . .	emc. 25
	Acqua distillata . . . . .	gr. 100
b) {	Cloruro di calcio . . . . .	» 0.75
	Acqua distillata . . . . .	» 100
c)	20 p. di quest'ultima si aggiunge 1 p. di una soluzione all'1% di rosso neutro.	

I preparati fatti con tutte le regole già dette per gli altri metodi, si tengono 10-20 secondi nella prima soluzione, si lavano in acqua e si asciugano e si montano.

Sol. mordenzante:

Sol. tannino all'etere 25% . . . . .	emc. 20
Sol. aeq. allume di ferro 50% . . . . .	» 10
Sol. alcool sat. fucsina basica . . . . .	» 1

Sol. colorante:

acqua distillata . . . . .	gr. 20
acido fenico . . . . .	» 1
alcool . . . . .	» 2
fucsina basica . . . . .	emc. 5

Le soluzioni di tannino e di allume si fanno a parte in bagnarina e in bottiglie chiuse: quindi si mescolano e sempre in bottiglia chiusa si pongono in un bagnarina, che va portato sino all'ebollizione, e durante la bollitura si agita. Il colorito della prima soluzione che è bleu deve con l'aggiunta della fucsina divenire viola: è inutile qualunque filtrazione, perchè precipitato non se ne deve avere.

Si copre il preparato col mordente, operando a temperatura non inferiore a 22° (se la temperatura è più bassa, il mordente da un po' di precipitato e bisogna che agisca di più, almeno per 10 minuti) e si lascia agire per 30 secondi, scaldato alla fiamma ad una altezza di 10-15 emc. e si ripete l'operazione per 3-4 volte: l'anello del materiale deve assumere un colorito grigio.

Quindi si versa sopra la soluzione fenica di fucsina, che si scalda sino ai primi vapori, e poi, tolto da sopra la fiamma il preparato, si lascia ancora agire il liquido caldo per 1 minuto: si lava, si asciuga con carta bibula e, se l'anello ha assunto un colorito rosa, si include.



Come si vede, sono moltissime le precauzioni da seguirsi per ottenere una buona colorazione di ciglia, e tali precauzioni derivano dal fatto che si tratta di organi non solo estremamente delicati, ma dei quali non si conosce la costituzione, benchè tutto faccia supporre che abbiano quella stessa dello strato gelatinoso esterno della membrana batterica, che è ugualmente poco dimostrabile, e che siano appendici della stessa, e non già produzioni del protoplasma uscenti attraverso forellini speciali della membrana batterica.

### B. — Riproduzione dei batteri.

Si suole distinguere un doppio modo di riprodursi dei batteri, per divisione diretta e per spore, sebbene qualche autore tenda ad ammetterne anche altri, che però sono tutt'altro che accertati.

1. RIPRODUZIONE PER DIVISIONE DIRETTA (COLONIE, PASTINE ECC.) — Ciascun batterio, in un dato periodo del suo sviluppo, si divide in due, e poi ciascuna parte ingrandisce, assumendo le dimensioni della cellula madre, rimanendo o no attaccata all'altra metà (fig. 113). Così si hanno dei batteri isolati o riuniti a catena, a gruppi di due, di quattro, in ammassi.

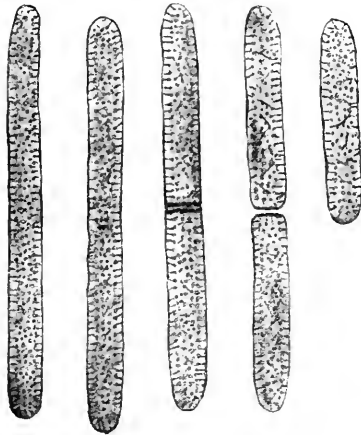


fig. 113 (da Schaudinn).

Tale divisione può avvenire secondo un solo piano, secondo due piani, o secondo tre piani. I cocci a catena e a grappolo, i batteri e gli spirilli si dividerebbero secondo un solo piano, i cocci a quattro secondo due piani, le sarcine secondo tre piani.

Per la proprietà di riprodursi a questo modo, i batteri si moltiplicano con una attività portentosa, sempre che trovino condizioni adatte di substrato e di temperatura.

È stato affermato che il vibrione colerigeno in 24 ore può dare luogo a 1000 triloni d'individui, che il bacillo del carbonchio nell'organismo in 48 ore può dar luogo a 16.777.216 germi.

Calcolando che ogni mezz'ora si produca una nuova generazione di germi, in 24 ore, alla temperatura più idonea che sarebbe vicina a 37°, ogni germe darebbe luogo a circa 50 divisioni, il che porterebbe alla produzione di 1.125.899.906.842.624 individui.

Ciò risulta dalla seguente tabella dove è indicato il numero delle divisioni cui ciascun germe potrebbe dare luogo in 24 ore alla temperatura da 10° a 37° C.

TAV. 11.

Temperatura	Numero delle divisioni	Numero dei germi
35°-37°	45-50	1.125.899.906.842.624
28°-30°	40	1.099.511.627.776
12°-25°	30	1.073.741.824
18°-20°	20	1.048.576
12°-15°	10	1.024

Questo modo di moltiplicarsi dei germi è identico a quello degli oidi e degli ifi degli ifomiceti, ed è, a quanto pare, il risultato di una riproduzione agamica: certo esso spiega l'ubiquità dei batteri.

Della proprietà di moltiplicarsi per via diretta dei batteri, ci si serve nella pratica per rilevare i così detti *caratteri culturali* dei germi, cioè per la *prova culturale*.

Seminando infatti materiali contenenti batteri in terreni di nutrizione o liquidi o solidi, adatti al loro sviluppo, questi si moltiplicano rigogliosamente e producono le così dette *colonie*.

Nei terreni liquidi tali colonie non si vedono, ma ci si può persuadere che si sono formate o perchè il brodo si intorbida, o perchè si forma un deposito, o perchè si forma una pellicola, o per tutti questi caratteri insieme.

Nei terreni solidi, se ciascun germe si moltiplica separatamente dal vicino, si vedono (*culture a piatto*) come piccoli punti, generalmente visibili ad occhio nudo, di spessore, consistenza e colorito diversi. Se invece i germi sono molto vicini gli uni agli altri, lungo la linea di innesto (*culture ad infissione*) si formano dei nastri più o meno continui. Se infine i germi si sviluppano sopra una superficie unica (*cultura per strisciamento*), si formano delle patine, più o meno diffuse, spesse, secche, umide, accartocciate, consistenti, colorate o no.

Nelle COLONIE (che si formano nelle così dette colture a piatto) si studiano: la *forma*, la *grandezza*, lo *spessore dei bordi e del centro*, la *trasparenza*, la *superficie*, il *contorno*, il *contenuto*, la *consistenza*. Si possono trovare così (fig. 114):

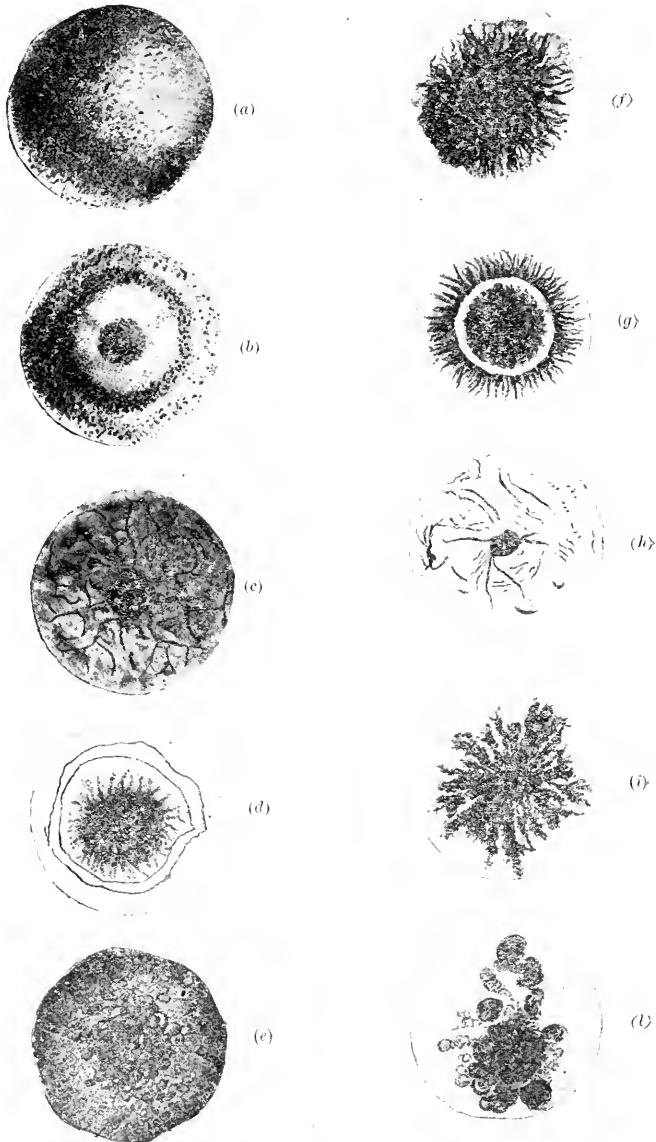


fig. 114.

Colonie simili a goccioline di rugiada (v. parte II, B. Influenza), finalmente granulose (a) con strati concentrici (b), con nucleo; a superficie venata (c) o striata radialmente (d); moriformi (e), accartocciate, raggrinzate (f); a bordi con fine raggiature (g), con nucleo da cui si partono filamenti aggrovigliati a cavaturacciolo (h); colonie a bordi laciniati e somiglianti a una foglia di ranunculacea (i); colonie risultanti da un ammasso di colonie più piccole a budello o salsiccio (l) ecc.

Nelle INFISSIONI in gelatina si studia (fig. 115):

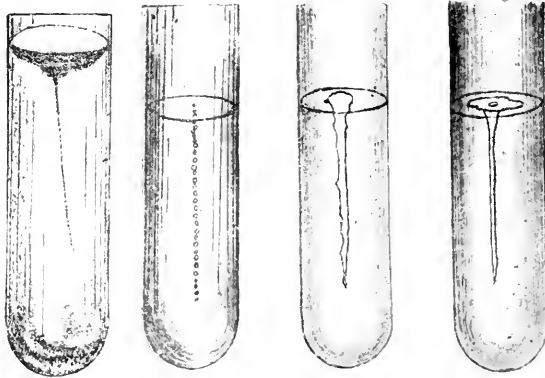


fig. 115.

lo sviluppo in superficie (mancante, limitato, esteso) e lungo l'infissione (mancante, a nastro, a corona di rosario, a filamenti);

il modo di fluidificare la gelatina (fig. 116): a calza (a), a imbuto, (b)

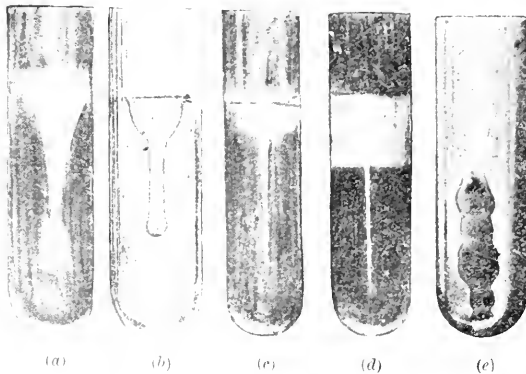


fig. 116.

a coppa (c), a cilindro (d), a vescicole profonde (e), con o senza pellicola galleggiante, con zona di fluidificazione torbida o limpida, colorata o scolorata.

Nelle PATINE si studia *l'estensione, lo spessore, il contorno, la superficie, la consistenza, il colorito*. Si trovano così sull'*agar* (fig. 117):

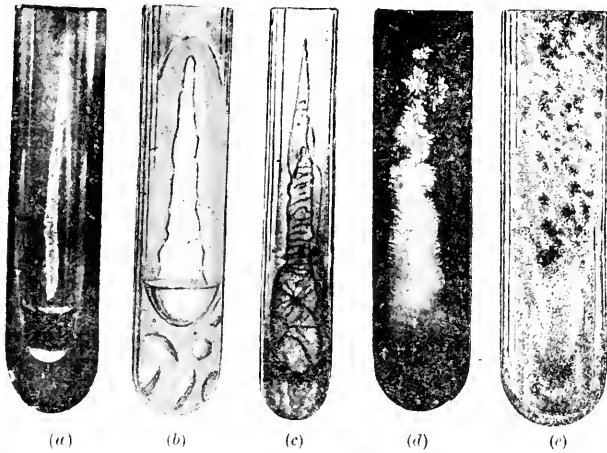


fig. 117.

patine limitate alla linea di innesto, lisce, biancosporche o variamente colorate, trasparenti o opache a bordi lisci, umide (a):

diffuse, a bordi ondulati, umide molto spesse, gassogene o no (b), o diffuse a superficie accartocciata (c):

discontinue perchè le colonie più o meno grandi nucleate o no, ecc., si sviluppano separatamente (c):

a patina spessa secca, a superficie anfrattuosità, a bordi sinuosi e finalmente seghettati (d).

Sulle *patate* (fig. 118) si trovano: patine, spesse, opache, più o meno diffuse, a superficie liscia (a), od anfrattuosità, mammellonata (b) ecc.

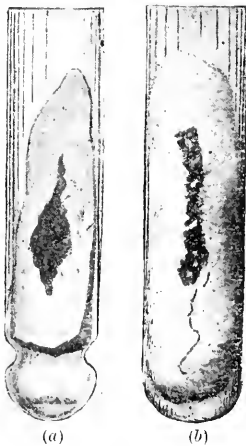


fig. 118.

Nelle COLTURE IN TERRENI LIQUIDI, si studia: *l'aspetto che assume il liquido*: se rimane limpido (con fiocchetti, con fiocchetti e deposito, con o senza pellicola galleggiante), se diviene torbido (omogeneamente con o senza deposito): *il deposito, quando c'è* (granulare o polveroso, fioccoso o fioconoso); *il velo o pellicola quando c'è* (liscia, raggrinzata, accartocciata e spessa, sottile, trasparente od opaca, scolorata o colorata, resistente, facilmente frammentabile, diffusa alle pareti del tubo o no).

Bisogna però tener presente che il tipicissimo dello sviluppo nei vari mezzi comuni di nutrizione può subire delle variazioni e non piccole in rapporto alla concentrazione, alla reazione, alla natura del substrato, al tempo da cui data la vita parasitaria del germe, alle sue parentele con altri germi.

Così lo streptococco può anche intorbidare il brodo, e lo stesso si dica del bacillo della difterite; il bacillo del tifo può formare colonie simili a quelle del b. del colon e a quelle di semilitii e viceversa.

Il b. del tifo e il v. del colera formano patine spesse sulle patate, esili sull'agar acido.

Se poi i germi provengono da substrati speciali o sono posti in peculiari condizioni di vita, la variabilità dei loro caratteri colturali diventa anche più marcata. Il tifo e dei similiti per esempio ricordano altri germi non patogeni, come il b. zopf; i b. difterico, i morvoso, ricordano delle streptothrix, ecc.

2. RIPRODUZIONE PER SPORE. — Per spora si intende un corpo che si forma nell'interno del germe, modificando o no la forma del batterio stesso, corpo che è capace di riprodurre il germe che lo ha formato e specialmente di essere straordinariamente resistente agli agenti fisico-chimici, per lo stato di concentrazione maggiore in cui si trovano le sostanze albuminoidee in esso racchiuse e per la mancanza di acqua.

A dimostrare la differenza di resistenza tra le forme vegetative e le forme sporificate di uno stesso batterio, basta dare una occhiata a questa tabella dove è posta a confronto la resistenza del bacillo del carbonchio con quella della sua spora, agli agenti fisici.

TAB. 12

	Bacillo	Spora
Luce diffusa	V. d. 12 ore	M. d. 80-180 giorni
Luce solare	M. d. 5 ore e 30 m.	• • 24 ore 3 giorni e più
Disseccamento	M. d. 70 giorni	Vive sino a 10 anni
Pressione	M. d. 3 ore	M. d. 12 ore
Acqua sterilizzata	M. d. 3 giorni	Vive d. 2 anni e 5 mesi
» potabile	M. d. 3 giorni	• 1 anno e 5 mesi
» di mare	M. d. 24 ore	• 1 anno e 7 mesi
» di seltz	M. d. 5 giorni	• 154 giorni
Ghiaccio	M. d. 5 giorni	• 90 giorni
Polvere della spazzatura di strada	V. d. 14 giorni	• 2 anni e 9 mesi

Si è ritenuto che ogni cellula batterica non possa formare più di una spora, però sono stati descritti batteri che ne formerebbero anche due.

Intorno al *processo di sporificazione* è stato di recente pubblicato uno studio dello Schaudinn su due bacilli, uno disporigeno (*b. bütschlii*) e l'altro monosporigeno (*b. sporouema*). Secondo l'A. la formazione delle spore sarebbe preceduta da un tentativo di divisione del bacillo con l'accento alla produzione di due cellule sorelle, le quali, rimanendo pur sempre congiunte tra loro, scambiano e fondono alcuni dei propri elementi (fig. 119): il fenomeno

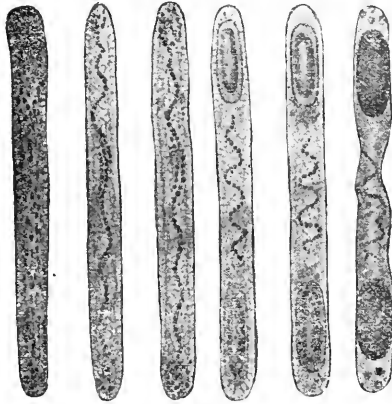


fig. 119 (da Scandium).

ricorda in certo qual modo un processo di auto-fecondazione, molto simile a quello che si svolge nell'*actinospherium* e in alcune alghe, e la spora (*b. sporouema*) o le spore (*b. bütschlii*) sarebbero il prodotto finale di tale processo.

In quanto alla *struttura* (fig. 120) le spore sarebbero costituite da una membrana bistratificata: *esina* si chiamerebbe lo strato esterno (*a*), *entina* l'interno (*b*), e quest'ultimo racchiuderebbe il protoplasma della spora o *protoplasto* (*c*).



fig. 120.

Le *condizioni per la sporificazione* dei batteri non sono tutte note. Gli aerobi hanno bisogno di ossigeno (essi non sporicherebbero mai secondo Matzuschita in una atmosfera di  $H_2$  e a una pressione inferiore a 30 mm.); gli anaerobi devono trovarsi in ambienti che ne difetti. Secondo l'A. il contenuto massimo di ossigeno tollerabile dagli anaerobi obbligati sarebbe 0.0031  $\%$ . In quanto alla temperatura.

si è trovato che l'ottimo di temperatura per la formazione delle spore nei germi patogeni si avvicina all'ottimo di sviluppo, cioè a 37°.

Per il b. del carbonchio, per es., si è veduto che:

a 31°-37° sporifica in 16 ore

a 24° » » 36 »

a 18° » » 50 »

a 12° o non sporifica o sporifica lentamente.

Il b. dell'edema maligno e quello del carbonchio sintomatico non sporificano sotto i 15°; quello del tetano sotto 20°.

Le altre cause non sono ugualmente accertate: per es. il difetto di materiale di nutrizione che non pareva fosse, sino ad ora, una delle condizioni favorevoli, poichè si era veduto i bacilli sporificavano anche in materiale ricco di sostanze nutritive, è dal Matzschita ritenuto recentemente come uno stimolo importante per la sporificazione, anzi il primo. Secondo l'autore la sporificazione degli anaerobi avviene meglio in terreni con il 0,25-0,5 % di cloruro sodico e il 5-10 % di glucosio a + 34° - + 38° C e più facilmente al buio che alla luce diffusa.

Le cause poi che possono ostacolare la sporificazione sono ancora meno note. In genere vanno citate le condizioni di anaerobiosi per gli aerobi, di aerobiosi per gli anaerobi, le temperature molto alte (42° per il b. del carbonchio), condizioni speciali ancora non bene note, inerenti ai terreni di coltura, o all'organismo in cui si moltiplicano i germi patogeni: per es. il b. del carbonchio non sporifica nell'organismo vivo, mentre sporifica il b. del carbonchio sintomatico.

La *sporificazione* nei batteri può avvenire:

1° senza che si deformi il batterio in cui si producono le spore (forme di *bacilli* propriamente detti) (fig. 121 a):

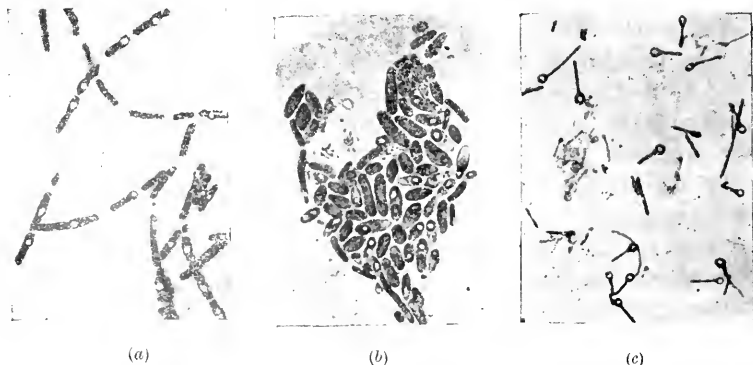


fig. 121.



2° con la deformazione del batterio nel suo diametro trasverso, per cui la cellula diviene più o meno fusata (forme di *clostridi*) (fig. 121 b);

3° con la deformazione di uno dei poli del batterio, per cui la cellula assume l'aspetto di una bacchetta di tamburo (forme di *plectridi*) (fig. 121 c).

La *germogliazione delle spore* (fig. 122) in adatte condizioni di



fig. 122.

temperatura e di substrato, a seconda dei vari batteri può avvenire in tre modi:

1° La spora, avvolta da una capsula gelatinosa, si trasforma direttamente in bacillo, senza lasciar traccia di membrana, oppure la spora si trasforma direttamente in bacillo rivestito dalla stessa membrana;

2° durante il germogliamento, si forma nella spora una seconda membrana, un endosporio rivestente il giovane bacillo che esce da un polo della spora;

3° il bacillo fuoriesce all'equatore invece che ad un polo della spora: solo alcune volte le spore germogliano nell'interno del bacillo, il quale prende la forma ramificata.

Sino a questi ultimi giorni si è ritenuto che i germi capaci di produrre spore fossero soltanto alcuni appartenenti alle forme batteriche allungate e dritte, e quindi si sono distinti i batteri (Lehmann e Neumann) in *batteri* o germi non formanti spore, e *bacilli* o germi formanti spore (1).

Tale distinzione può ancora accettarsi, sebbene recenti ricerche tendano ad ammettere che nei germi non sporigeni si producano delle spore, che però non hanno la resistenza di quelle degli sporigeni propriamente detti.

Sarebbero queste le così dette *protospore* del Fedorowitsch, risultanti dalla fusione di una serie di corpi albuminoidi esistenti alla periferia del germe, le quali si formerebbero nel b. della difterite, e io aggiungo anche nel b. della tubercolosi, dove vi sono dei granuli analoghi. Devesi però notare che il significato di pro-

(1) Faccio notare che per Migula i primi sarebbero invece le forme allungate non cigliate, i secondi quelle cigliate.

tospore dato a questi germi è assai difficile ad esser bene accetto, dopo gli studi del Grimme che ritiene questi granuli siano corpi grassi.

Si è anche affermato che alcune forme non sporigene, passando nell'intestino degli insetti, sporificano: ma, tali ricerche abbisognano di ulteriori controlli, perchè non è sufficientemente dimostrato che i germi trovati sporificati, nelle feci di questi animali e anche nel loro intestino, siano proprio quelli che vennero ingeriti dagli insetti.

Dippiù è necessario tenere presente che le spore una volta colorate non sono ugualmente resistenti ai decoloranti: per es. le spore del carbonchio sono molto resistenti, quelle dell'edema maligno e del carbonchio sintomatico lo sono molto meno. Il metodo che serve quindi a far risaltare bene quelle del carbonchio, non serve a far risaltare ugualmente quelle degli altri.

Quindi i procedimenti per la colorazione delle spore sono diversi e vanno distinti in due gruppi: quelli che servono a mettere in evidenza le spore vere, resistenti, una volta colorate, alla decolorazione mediante acidi, e quelle che servono a mettere in evidenza le spore vere poco resistenti agli agenti decoloranti.

Le spore vere si riconoscono coll'esame a fresco e per mezzo di colorazioni.

*I preparati a fresco* possono far supporre la loro esistenza per la rifrangenza speciale di cui sono dotate, per la forma regolare, rotonda od ovale, per la deformazione del corpo del germe nel punto in cui si trovano (b. del tetano, b. del carb. sintomatico).

*I preparati colorati* si fanno seguendo speciali procedimenti, la buona riuscita dei quali è legata però a condizioni diverse e principalmente alla provenienza del materiale:

1° da culture in terreni solidi (preferibilmente su patate): il bacillo del carbonchio per es. sulle patate, forma in breve tempo numerose spore, mentre nel brodo è un'eccezione trovarne qualcuna ben dimostrabile, ammenochè non si prendano quei germi rimasti aderenti al punto in cui il liquido lambisce la superficie del vetro;

2° da materiali tenuti ad una adatta temperatura di sviluppo: per il carbonchio 28°, per il tetano, per il carbonchio sintomatico, per l'edema maligno 35° 37°;

3° da culture tenute nelle condizioni di aerobiosi se si tratta di germi aerobi di anaerobiosi se si tratta di germi anaerobi.

Tra i metodi per colorare le prime va preferito quello del Müller, più o meno modificato nei particolari della manipolazione.

**METODO DI MÜLLER.** Il materiale seccato è fissato per 2 minuti nell'alcool assoluto, viene posto in cloroformio per lo stesso tempo, poi senza lavare viene trattato per 5 minuti con acido cromico al 5%. Quindi si lava e poi si colora a caldo (senza fare bollire), per 4-5 minuti con la

fucsina di Ziehl; si lava ancora in acqua e si passa 1-2 secondi in acido solforico al 5%, si torna a lavare e poi si colora con bleu di metilene in soluzione acquosa a freddo per 20-30 secondi, si lava un'ultima volta, si essicca, si monta. Le spore rimangono colorate in rosso, il corpo bacillare in turchino.

*Secondo noi* il materiale seccato e fissato si tratta con acido cromico al 5% per 10 minuti a freddo, si lava abbondantemente in acqua, e si colora a caldo sino all'ebollizione in fucsina fenica per 15 minuti; si lava in acqua, si passa rapidissimamente in  $H^2SO^4$  al 2%, si lava e si colora per 20-30 secondi, a freddo o scaldando leggermente, con bleu di metilene idroalcolico.

Per colorare le spore degli altri germi si abolisce addirittura il passaggio in acido solforico, limitandosi alla semplice decolorazione con alcool per pochi secondi.

**METODO DI KLEIN.** Si emulsiona una patina in agar con  $NaCl$  al 0,85% (2 cmc.), se ne pongono 20 gocce in una provetta, aggiungendovi altrettanto liquido di Ziehl filtrato. Si scalda fino ai primi vapori, se ne preleva un'ansa, si distende sopra un vetrino lasciando essiccare all'aria. Si fissa alla fiamma, si lava con acido solforico 1% per pochi secondi, poi in acqua e si ricolora con bleu di metilene scaldando sino ai primi vapori: si lava, si secca, s'inchiude. Con questo procedimento rimangono colorate le spore in rosso e il corpo del batterio in bleu. A mio avviso però rimangono colorate in rosso anche altre parti del corpo batterico, come vacuoli e grassi, per cui non è così specifico come quello di Möller.

Sono stati consigliati molti altri metodi, i quali però sono meno raccomandabili. Così alcuni invece della fucsina fenica adoperano il violetto fenico; altri sostituiscono all'azione dell'acido cromico quella del calore, passando una decina di volte il preparato alla fiamma; altri decolorano con una soluzione di acido nitrico 1 su 3 o col cloridrato di anilina al 2%; altri infine prima colorano il corpo bacillare col bleu, poi dopo le spore con la fucsina, ecc., ma sono tutti procedimenti poco consigliabili.

**3. ALTRI MODI DI RIPRODURSI DEI BATTERI.** — Oltre a questi modi di riprodursi dei batterii, ne sono poi stati descritti altri: v'è chi ha veduto delle forme bacillari fornite di un punto polare, ed ha pensato a una gemmazione con successiva divisione secondo uno o due piani (fig. 123), v'è chi ne ha vedute altre allungarsi,

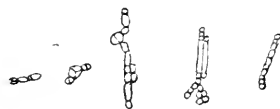


fig. 123.

ramificarsi e presentare, all'estremo di piccoli miceli, delle catenule di corpi rotondi (fig. 124), i così detti conidi, da distinguersi



fig. 124.

dalle endospore, che sono le vere spore dei batteri. V'è chi ha descritte nelle forme cocciche, delle forme più grosse, più resistenti

alle colorazioni, e le ha somigliate a spore chiamandole artrospore (fig. 125).

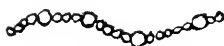


fig. 125 (da Migula).

In genere si può ritenere, per ciò che si riferisce alle forme allungate, che veramente in determinate condizioni di sviluppo, in speciali mezzi di nutrizione, alcune di esse tendono a ramificarsi così che assumono più o meno completo l'aspetto di quei batteri detti *streptothrix*, i quali all'estremo dei filamenti possono presentare dei corpiccioli rotondi (gonidi) a serie catenulari, ognuno dei quali è capace di riprodurre il germe da cui proveniva.

### C. — Nutrizione dei batteri.

1. ASSIMILAZIONE. — I batteri, come tutti gli esseri viventi, hanno la proprietà di assimilare gli elementi, che concorrono a formare la materia vivente, cioè carbonio, azoto, ossigeno, sodio, fosforo, ferro, calcio, magnesio, ecc.

*L'assimilazione del carbonio* per opera dei germi si può fare in 2 modi: per mezzo di speciali pigmenti assimilanti, o di speciali azioni chimiche.

I batteri, i quali assimilano per mezzo di pigmenti assimilanti, sono quelli che più si avvicinano alle piante e possiedono o la clorofilla, o un altro pigmento, detto batteriopurpurina. Questi germi prendono il carbonio direttamente dall'anidride carbonica dell'atmosfera e sembra che coll'ossigeno libero formino della formaldeide, che si polimerizzerebbe. Da questa poi per una serie di trasformazioni, si avrebbero gli idrati di carbonio (amido, destrina, saccarosio, maltosio, ecc.).

I batteri, i quali hanno la capacità di assimilare il carbonio per mezzo di speciali azioni chimiche, sono i nitrobatteri, i quali utilizzano l' $H$  nascente, che rimane libero per la trasformazione dell'ammoniaca in acido nitroso, per disossidare l'anidride carbonica e formare acqua e formaldeide.

Tutti gli altri batteri prendono il carbonio da una serie di composti che lo contengono sotto forma di  $CH^2$  e di  $CH$ ; non da quel i che lo contengono sotto la forma  $CO$  o  $CN$ .

Questi corpi furono studiati dal Nægeli, che li ha classificati nel seguente ordine: zucchero, peptone, mannite, glicerina, leucina, acidi tartarico, citrico e succinico, asparigina, acido acetico, alcool etilico, acidi benzoico e salicilico, propilammina, metilammina, fenolo.

Anche in questo caso, senza entrare in particolari, il principio della sintesi dei composti di carbonio è rappresentato dalla formaldeide: anzi è dimostrato, che a seconda della quantità maggiore o minore del gruppo  $CH^2O$  si ha maggiore o minore forza nutritiva da parte delle sostanze.

Vien quindi da sè che quei corpi che contengono molti di questi gruppi  $\text{C H}^2\text{O}$ , liberi, sono più nutritivi di quelli da cui i batteri debbono trarlo fuori da una serie di composizioni.

L'assimilazione dell' azoto è compiuta da due grandi gruppi di batteri. Un primo gruppo prende l'azoto da quei corpi che lo contengono nella forma  $\text{N H}^2$ , meno da quelli che lo contengono come  $\text{N H}$  e meno ancora da quelli che lo contengono come  $\text{N O}$ .

Questi corpi sono stati classificati dal Nägeli in quest'ordine: peptone, sintonina, fermenti, leucina, tartrato di  $\text{N H}^2$ , succinato di  $\text{N H}^2$ , asparagina, acetato di  $\text{N H}^2$ , acetamide, metilamina, etilamina, propilamina, carbamide, ossamide, sali minerali di  $\text{N H}^2$  e sali minerali dell'acido nitrico.

Il secondo gruppo di batteri assimila l'azoto dall'atmosfera, e questo gruppo così importante comprende i batteri del genere *Rhizobium* (batteri radiceicoli) i quali si sviluppano nelle radici delle papilionacee, dove formano le così dette nodosità delle papilionacee. Essi assorbono direttamente l'azoto dal terreno e lo cedono alla pianta, la quale in cambio offre ai batteri il nutrimento. È questo un esempio di simbiosi.

Come il primo prodotto di sintesi dell'assimilazione del carbonio sarebbe rappresentato dalla formaldeide, così il primo prodotto di sintesi dell'assimilazione dell'azoto viene rappresentato dalla asparagina, che sarebbe l'aldeide dell'acido asparaginic o acido amidosuccinico. Essa polimerizzandosi e combinandosi coll'acido solfidrico e con l'idrogeno nascente condurrebbe poi alla formazione della molecola albuminoidea.

All'assimilazione del carbonio e dell'azoto si annettono due grandi fatti: LA CIRCOLAZIONE DEL CARBONIO E DELL'AZOTO.

Il carbonio si trova in natura nell'aria atmosferica sotto forma di anidride carbonica e deriva dalla trasformazione delle sostanze idrocarbonate e delle sostanze albuminoidee in genere. Esso però non rimane come tale, perchè le piante verdi lo scindono in carbonio ed ossigeno, il primo dei quali viene assimilato e ricondotto a far parte dei composti idrati di carbonio, e questi alla loro volta dai funghi e dagli animali sono scomposti e ripristinati in anidride carbonica. Così c'è una continua circolazione del carbonio in natura.

Per ciò che si riferisce alla circolazione dell'azoto, esso può venire assimilato dall'atmosfera dai *b. radiceicola* direttamente, indirettamente dagli altri, e vien dato alle piante che l'utilizzano, formandone le sostanze albuminoidee.

Gli animali utilizzano queste sostanze albuminoidee vegetali e per una serie di processi le trasformano in sostanze albuminoidee animali. Le sostanze albuminoidee animali sono poi attaccate dai così detti batteri della putrefazione, i quali le scompongono e le riducono in  $\text{N H}^2$ ,  $\text{H}^2\text{O}$  e  $\text{C O}^2$ . L' $\text{N H}^2$  a sua volta viene poi trasformata in nitriti e nitrati per opera dei batteri nitrificanti e resa così assimilabile dalle piante.

Riguardo all'assimilazione dell'ossigeno i batteri si distinguono in *aerobi*, *anaerobi* e *anaerobi facoltativi* o come meglio si dice in *ossigenofili*, *ossigenofobi* e *paraossigenoflli*.

*L'assimiliazione degli altri corpi, fosforo, sodio, ferro, potassio, calcio, manganese, ecc.* vien fatta dai singoli germi che prendono questi corpi per lo più dalle diverse sostanze minerali.

2. TROFISMO. — I germi rispetto al modo di nutrirsi si distinguono in tre gruppi: *prototrofi*, *metatrofi* e *paratrofi*.

Nel gruppo dei prototrofi sono germi che si contentano di pochissimo, che vivono sul ferro, sullo zolfo, sul salnitro ecc.

Il gruppo dei metatrofi comprende due gruppi di germi, l'uno rappresentato da quelli che attaccano le materie organiche morte e tentano distruggerle o trasformarle e questi sono i *saprogeni*, l'altro da germi che vivono a spese dei materiali prodotti dai primi e sono i *saprofiti* o *saprofaghi*. Fra questi alcuni possono divenire parassiti; basterà dire che sono saprofiti il b. del tifo, il b. del colon e il v. del colera.

Il gruppo dei paratrofi comprende i germi che vivono solo nell'organismo animale, come il gonococco di Neisser, il germe del vaiuolo, della sifilide, della rabbia. Tutti gli altri paratrofi, pur vivendo esclusivamente nell'organismo, possono mantenersi vitali fuori di questo, senza però moltiplicarsi, come i b. della tubercolosi e della difterite.

3. TERRENI DI COLTURA ARTIFICIALI. — Tutti gli studi che si sono fatti intorno alla nutrizione dei germi hanno avuto per mira di studiare quali sono le condizioni nelle quali si possono coltivare i batteri; si sono studiati quindi i terreni di cultura e si è cercato anzitutto di rilevare i caratteri fondamentali di questi per essere adatti allo sviluppo dei batteri, cioè: la ricchezza dei materiali nutritivi, la consistenza, la reazione.

Circa la *ricchezza dei materiali nutritivi*, generalmente si è ritenuto e si ritiene che i substrati debbano contenere grande numero di corpi, che debbono cioè essere complessi.

Perciò in tutti i laboratori oggigiorno si usano infusi vegetali e animali, a cui si aggiungono peptone, cloruro sodico e anche altre sostanze, facendo così delle soluzioni più o meno complesse che servono ottimamente per lo sviluppo dei germi. Però tale procedere non è strettamente scientifico, per cui i batteriologi tentarono di fabbricare dei substrati più semplici nei quali eventualmente si potessero anche eliminare le sostanze albuminoidee.

Sono note già le formule minerali del Pasteur, del Nägeli, ecc.

Il Fränkel ha cercato d'introdurre nell'uso comune questa formula: acqua 1000, NaCl 4, fosfato sodico 2, citrato d'ammonio 6, asparaginato di sodio 4.

In questo liquido si coltivano una serie di germi appartenenti al gruppo dei metatrofi, per es. il prodigioso, il sottile, il mesenterico, il cianogeno, il piociano, il colera, il proteo, il pneumobacillo.

Il Gamaleña ha indicato, ove si voglia ottenere lo sviluppo dei paratrofi, p. es. del bacillo della tubercolosi, questa formula: acqua 1000, asparagina 4, citrato di ammonio 4 o fosfato di sodio 2, alle quali sostanze si aggiungono gr. 30 di glicerina.

Ciò non toglie però che alcuni batteri si sviluppino anche in soluzioni più semplici; p. es., in soluzioni di cloruro sodico al 3 % il vibrione del colera prospera ancora. Vi sono anzi germi che utilizzano per la loro nutrizione solo l'acido carbonico e l'ammoniaca dell'aria e quel poco di materiale che si può trovare sulla parete del vaso; essi sembrano perciò vivere apparentemente in acqua distillata ed è curioso che si dice (!) trasformino quest'acqua in una massa gelatinosa.

In quanto alla *reazione del substrato* le ricerche fatte dimostrano che ha grandissima importanza. Si è visto per es. che in una soluzione di asparagina e di zucchero all'1 %, finchè questa ha una reazione alcalina, si sviluppano il b. del tifo, il b. del colon, il vibrione del colera e il b. piociano: però il bacillo del tifo vi si sviluppa meno di tutti; quando la soluzione è acida, il b. del carbonchio, quello del tifo e il vibrione del colera non si sviluppano più.

In genere i germi si sviluppano in terreni alcalini o neutri: gli acidi sono preferiti dalle muffe e dai blastomiceti.

Durante lo sviluppo nei substrati alcalini o neutri per lo più i singoli germi trasformano dapprima in acida la reazione del substrato.

Per potersi studiare questo fenomeno si sogliono aggiungere ai liquidi diversi indicatori, per es. la tintura di tornasole, la fenolftaleina o colori di anilina, come il turchino di metilene.

Riguardo alla *consistenza dei substrati* noi li distinguiamo in due gruppi: liquidi e solidi.

I liquidi sono rappresentati: da soluzioni minerali, da infusi vegetali o animali, fra i quali il più comunemente usato è il brodo Löffler, che è un infuso di carne con peptone e, se si vuole, anche con glicerina.

I substrati solidi sono rappresentati da patate tagliate a fette o da uova dure; da infusi solidificati mediante sostanze speciali, come l'agar-agar, il *fucus crispus*, la gelatina o colla di pesce; da siero di sangue o da albuminato sodico solidificato a 70° o a 100°.

### Tecnica per la preparazione dei terreni di coltura.

Nella pratica i terreni di coltura nei quali noi coltiviamo i germi e nei quali, dopo ottenutone lo sviluppo, cerchiamo di rilevare caratteri diagnostici, possono distinguersi in due categorie:

1° terreni nei quali si sviluppano tutti i germi a parità di condizioni o *terreni comuni* :

2° terreni nei quali preferibilmente, in determinate condizioni, si sviluppa piuttosto un germe che un altro, o *terreni speciali*.

#### TERRENI COMUNI.

Comuni sono tutti terreni con albumina (fig. 126).

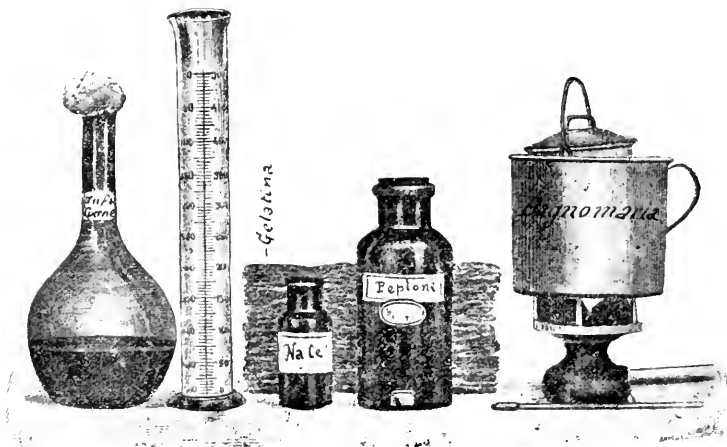


fig. 126 (da Heim).

1. *Infuso di carne*. — Ordinariamente si prende della carne magra (di vacca, di cavallo) si spezzetta e poi si mette in infusione col doppio peso di acqua distillata, alla temperatura ordinaria, per 12 ore o meglio fino a 48 ore, perchè si è osservato che si possono estrarre più sostanze nutritive da carni molto frolle.

Si può anche fare l'infuso a caldo, ma in questo caso le operazioni che seguono sono meno semplici che nell'altro. Infatti l'infuso a freddo basta che sia bollito una volta; mentre quello a caldo deve essere riscaldato 2-3 volte; nel filtrarlo bisogna stare attenti a non permettere il passaggio di sostanze albuminoidee precipitate.

Ottenuto l'infuso e filtrato, è necessario alcalinizzarlo, e ciò si fa o con soda o con potassa, o con carbonato di sodio; questo è anzi il migliore, perchè, anche mettendone un eccesso, non nuoce allo sviluppo dei germi, ciò che succederebbe con un eccesso di potassa.

La tecnica dell'alcalinizzazione è semplice; si versa cioè il liquido in una grande capsula, vi si aggiunge tanta soluzione acquosa saturata a freddo di carbonato di sodio fino a che la carta di tornasole non diventa nettamente bleu, e poi si fa bollire.

È utile servirsi come carte reattive di quelle colorate in viola, le quali diventino rosse o bleu quando vi si faccia cadere una goccia rispettivamente acida o alcalina. Le migliori carte reattive sarebbero quelle non porose e colorate da una faccia, la cui sensibilità può provarsi



portandovi a contatto una goccia di una soluzione di acido ossalico 1:100000 e vedendo se si ottiene arrossamento.

Si può anche alcalinizzare con precisione, usando la soda normale e mettendo come indicatore la fenolftalina; ma nella confezione dei comuni terreni è un procedimento superfluo.

Staccando poi dopo l'ebollizione il liquido potrebbe tornare acido, è necessario, prima di distribuirlo in tubi e sterilizzarlo, assicurarsi della sua alcalinità. A tale brodo si usa aggiungere l'1 % di peptone, il 0,5 %, di cloruro di sodio, e dal 2 al 6 % di glicerina.

Ecco come, secondo il Grimbert, si opera nell'Istituto Pasteur:

1° si macera della carne trinciata nel doppio del suo peso di acqua fredda per un tempo da determinarsi;

2° si sprema attraverso un panno e si porta il liquido all'ebollizione per qualche minuto;

3° si filtra attraverso carta bibula;

4° si alcalinizza leggermente, ma nettamente con soda diluita;

5° si pone il liquido alcalinizzato nell'autoclave a 129° per un quarto d'ora, e si filtra ancora caldo;

6° si distribuisce nei recipienti e si sterilizza.

Nel nostro istituto si fa macerare la carne nell'acqua fredda per 24 ore, quindi senza togliere la carne, facendola passare attraverso un panno, si fa bollire per 1/2 ora. Si filtra poi alla carta, si aggiunge l'1 % di peptone e il 0,50 % di cloruro sodico; si fa bollire per qualche minuto, si filtra alla carta e si alcalinizza nettamente con soluzione di carbonato sodico satura a freddo. Ciò fatto, si cuoce nella pentola di Koch almeno per 1 ora, si lascia raffreddare e si filtra un'ultima volta, dopodiché si distribuisce in tubi o in palloni e si sterilizza definitivamente, badando di saggiare la reazione (che deve essere alcalina) di qualche tubo.

2. *Brodo all'estratto di Liebig.* — Invece del precedente brodo se ne può fare un altro sciogliendo l'1-2 % (meno bene il 0,5 %) di estratto di carne Liebig in 100 cme. di acqua comune, cui si aggiunge l'1 % di peptone (il cloruro di sodio è inutile). Si cuoce per 30 minuti nella stufa di Koch, si lascia depositare e raffreddare e poi si filtra. Si alcalinizza nel modo ordinario oppure si scalda e si aggiungono il 30 % di soda al 4 % e poi tante gocce della stessa soluzione sino a che la carta di tornasole rimane decisamente bleu. Si torna a cuocere per 15 minuti, si filtra e si distribuisce.

3. *Brodo all'albumosa* (Hesse). — Si è anche tentato di sostituire ai materiali surricordati delle albumose, specie quella di Heiden. Essa si scioglie nell'acqua, con facilità, generalmente nella proporzione 0,5-1 %. Il miglior terreno all'albumosa si fa prendendo gr. 5 di albumosa di Heyden, sciogliendola in un mortaio in 50 cme. di acqua e poi aggiungendo 5 gr. NaCl 30 di glicerina e gr. 950 di acqua. Si tiene nella stufa a 100° per 15 minuti, si filtra, si distribuisce nei recipienti e si sterilizza.

4. *Soluzione di albuminato alcalino.* — L'albumina d'uovo si fa così (Casagrandi):

si prendono 100 gr. di albumina secca, si sciolgono in 100 cme. di acqua distillata, si filtra attraverso carta, si aggiungono 5 cme. di soluzione di soda al 4 % ogni 125 cme. della soluzione di albumina filtrata e poi ad ogni 50 cme. di liquido si aggiungono 10 cme. di acqua distillata. Si distribuisce in tubi e si sterilizza nella stufa di Koch o nell'autoclave.

5. *Latte.* — Oltre a questi liquidi si usa anche il latte, che deve adoperarsi scremato; altrimenti si forma in superficie nei tubi di saggio uno strato spesso di globuli del latte che osta alla grandemente lo sviluppo dei germi aerobici.

6. *Gelatina ed agar.* — Per avere dei terreni solidi, non si deve che aggiungere al brodo, preparato come sopra, alcune sostanze, quali, in genere, la gelatina o colla di pesce e l'agar. De la prima è di regola aggiungerne il 10 %; solo nella stagione estiva è bene salire al 15 %, perché, se la temperatura dell'ambiente si eleva a 28°-29°, si fluidifica e lo stesso si dica per comodità di trasporto se la gelatina deve servire per esami di acqua. Soltanto in casi speciali quando si vogliono studiare certi caratteri culturali di dati microrganismi è bene che l'infuso di carne venga gelatinizzato nelle proporzioni del 3 al 4 %.

Dell'agar basta aggiungere 1-2-2 1/4 %; aggiungendone di più diventa estremamente difficile la filtrazione. Essa si aggiunge in polvere, oppure in fili che si tagliuzzano con le forbici.

Il brodo gelatinizzato si tiene per 1 ora nella stufa di Koch; il brodo agarizzato per varie ore (da 2 a 5); quindi si filtra, ciò che, se riesce facile per la gelatina, usando un imbuto a doppia parete nella cui intercapedine si mantiene dell'acqua calda, oppure ponendolo entro la stufa di Koch, è invece molto difficile per l'agar. In ogni caso ciò si fa entro la pentola del

Koch o in un imbuto ad acqua bollente, favorendo la filtrazione col far pressione per mezzo di aria compressa, nel qual caso va da sè che l'imbuto deve esser fornito di coperchio a chiusura ermetica con un rubinetto in comunicazione con una pera di gomma che serva per fare la pressione.

Si può però ovviare a tutte queste manipolazioni lasciando riposare il liquido nella stufa a 100° e poi servendosi del liquido decantato; oppure si può seguire il metodo del Centanni.

Questi prende un cilindro di rete metallica fornito nella superficie superiore di un beccuccio cui si attacca un tubo di caoutchouc. Si circonda il cilindro con carta bibula che vi si trattiene aderente per mezzo di anelli di caoutchouc. Si mette in comunicazione il tubo di gomma con una bottiglia a tubulatura laterale e questa con la pompa aspirante, quindi si immerge il cilindro nel recipiente contenente agar bollente, il quale recipiente si può anche tenere in un bagnomaria la cui acqua si porta alla ebollizione (sebbene non sia neppure necessaria questa precauzione, perchè la filtrazione si fa generalmente con grande rapidità).

Tanto della gelatina quanto dell'agar dopo filtrati, deve esser risaggiata la reazione, che deve essere alcalina.

7. *Agar al sangue.* — All'agar si può poi aggiungere del sangue: perciò si fa colare sulla superficie del substrato una goccia di sangue fresco, sterile, di coniglio, di cavia, o d'uomo: così si forma il così detto *blut-agar* o agar al sangue: i tubi si tengono in termostato per 48 ore almeno prima di adoperarli; quelli che rimangono sterili si adoperano.

8. *Agar al siero.* — L'agar ancora si può aggiungere di siero e allora si fa il così detto *agar-siero*. Si scioglie l'agar in un bagnomaria la cui acqua si porta all'ebollizione e poi si lascia raffreddare sino a 40°-50°: quindi si riscalda del siero a 40°-50° e si aggiunge all'agar nelle proporzioni di 1 di siero a 2 di agar. Dopo di che si lascia raffreddare, disponendo in modo la provetta che si solidifichi a becco di flauto.

9. *Siero di sangue.* — Altro terreno solido è il siero di sangue, che però si usa solo in casi speciali perchè ne è difficile la preparazione. Il sangue intero preferibilmente di vacca o vitella, si raccoglie entro cilindri di vetro, da cui, dopo coagulatosi, si estrae il siero con una pipetta di vetro sterilizzata e si distribuisce in provette. Meglio è però servirsi dei palloni di Tizzoni Centanni (fig. 127), forniti di una tubulatura laterale e di una bacchettina che si erge verticalmente dal fondo del recipiente. Attorno alla bacchettina rimane attaccato il coagulo: così



fig. 127.

il siero si separa e può essere versato nei recipienti per mezzo del tubo laterale che è anche piegato ad uncino in modo da evitare una troppo grande inclinazione del recipiente.

Il siero di sangue raccolto nei tubi generalmente si adopera coagulato a becco di flauto, per cui i tubi si pongono in una scatola a doppia parete leggermente inclinata, la cui temperatura si porta lentamente a 70°. Man mano che il siero si coagula nei tubi, questi si tolgono, perchè se si lasciano a lungo, il siero diventa bianco e cessa di essere trasparente come quando, per far presto, lo si solidifica a 100°.

Gli apparecchi che servono per la solidificazione del sangue a 70° sono quelli di Koch e di Abba, la cui descrizione si trova in tutti i trattati.

10. *Patate*. — Un ottimo materiale solido di cultura sono le patate, specie le olandesi, che presentano forma ovalare, a superficie liscia, e una polpa farinosa.

I metodi di preparazione di questo substrato sono diversi come diversi sono i recipienti che servono a contenerlo.

Se si preparano le patate col metodo del Koch, cioè, senza decorticarle, si spazzolano bene con soluzione di sublimato, si sterilizzano nella stufa, e poi con coltello arroventato si tagliano a metà e senza separare i due pezzi si introducono in una camera di vetro grande, (le così dette camere di Tyndall, pulita con sublimato, e contenente al fondo un foglio di carta bibula bagnata in sublimato: si separano quindi le due metà in modo che le superfici di taglio guardino in alto.

Questo procedimento però oggi è stato messo a parte; perchè non è possibile distruggere le spore dei germi del terreno (v. Parte I. Cap. III), senza molte sterilizzazioni, con le quali il substrato di nutrizione diventa meno adatto allo sviluppo dei germi e poi assume una colorazione nerastra.

È migliore il metodo dell'Esmarch: mondare cioè bene le patate, tagliarle a dischi, che si mettono in capsule Petri ed ivi si sterilizzano: oppure quello del Bolton e Globig. (fig. 128)

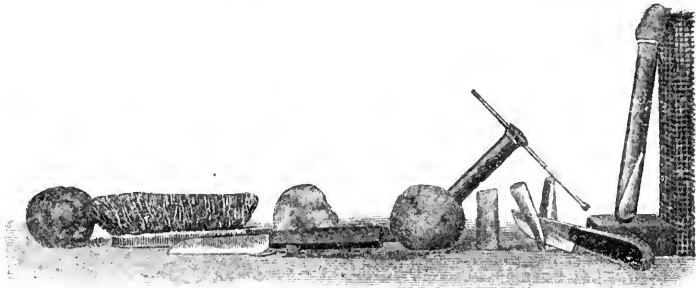


fig. 128 (da Heim).

cioè accuratamente spazzolate e mondare le patate, cavarne cilindri per mezzo di un foratappi, tagliando poi i cilindri a becco di flauto. Questi becchi di flauto si mettono quindi in provette aventi al fondo dell'ovatta bagnata con acqua distillata sterile (fig. 129-*a*) o in provette aventi

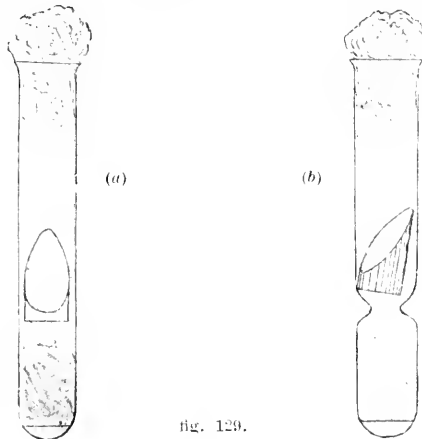


fig. 129.

vicino all'estremità inferiore una strozzatura che serve a trattenere la patata, i così detti tubi di Roux (fig. 129-b) e permette così che nel fondo possa rimanere tant'acqua quanto è necessaria a mantenere umido il substrato nutritivo.

11. *Uova*. — Oltre le patate si sono adoperate anche le uova; ma non è detto che il contenuto delle uova sia sterile; d'altro canto non è questo un mezzo di cultura alla mano e a cui sia oramai più necessario ricorrere.

Così pure si sono adoperate *rape, carote, carciofi*, ecc., ma l'uso di questi substrati, se ha ragione di essere per ricerche speciali, nella generalità dei casi è inutile.

#### TERRENI DI CULTURA SPECIALI.

Servono sia per lo sviluppo dei germi che difficilmente si moltiplicano al di fuori degli organismi viventi (paratrofi), sia per ricercare determinati germi in mezzo agli altri (muffe, blastomiceti, v. del colera, b. del tifo, ecc.) sia per differenziare germi molto simili tra di loro (b. del tifo, b. coli, ecc.). Siccome però molti di essi, controllati, si sono dimostrati inadatti, e molti non sono sufficientemente stati studiati, così mi limiterò a riferire solo quelli, che sembra maggiormente si prestino agli scopi anzidetti, avvertendo però che nessuno di essi può ritenersi assolutamente specifico.

#### TERRENI DI CULTURA DEL GONOCOCCO.

1° *il terreno di Thalmann*: si prepara l'agar nel modo ordinario, sino al momento della alcalinizzazione definitiva. Questa deve esser fatta in una determinata proporzione, per stabilire la quale si procede così: a 30 cmc. di agar fluidificato e addizionato di qualche goccia di soluzione alcoolica di fenoltalcina, si aggiunge poco a poco, mediante una pipetta graduata, della soluzione di soda normale fino alla comparsa di una leggera tinta rossa; si calcolano i  $\frac{3}{4}$  della quantità di soda che è stata necessaria per la neutralizzazione dei 30 cmc. e si deduce mediante una proporzione la quantità percentuale da aggiungere all'agar per ottenere il voluto grado di alcalinità;

2° *il terreno di Cantani*: si fanno pervenire 25-30 cmc. di sangue umano estratto dalla vena del braccio in altrettanti glicerina e alcune gocce della miscela si aggiungono all'agar ordinario, o a brodo, o a liquido ascitico;

3° *il terreno Casagrandi*: si prepara l'agar or inario, aggiunto del 0.5 % di nutrosio, (aggiunta che si fa anche nel terreno di Wassermann citato dai trattatisti, ma che non dà buoni risultati), e si alcalinizza col metodo del Thalmann: si aggiungono quindi ad ogni 10 cmc. di agar sciolto a 40° 2-4 gocce di sangue sciolto in glicerina pura riscaldata a 55° per inattivare i complementi del siero: il sangue che più si presta è quello umano; però può servire anche quello di vitella.

#### TERRENI PER LA DIAGNOSI DIFFERENZIALE TRA IL B. DEL TIFO E IL B. DEL COLON.

Questi terreni sono moltissimi, liquidi e solidi: i principali e meglio rispondenti allo scopo sono i seguenti (gli altri sono semplicemente elencati nella parte II dove si parla del *b. coli*):

##### *Terreni liquidi.*

##### 1. *I brodi fenico-cloridrici, di Parietti.*

Si prepara il brodo ordinario, e si aggiungono acido fenico e acido cloridrico %, nelle tre proporzioni:

0,45	acido fenico,	0,40	acido cloridrico
0,95	»	0,80	»
1,44	»	1,45	»

in modo da fare tre brodi con diverso grado di acidità.

Si possono anche tener pronte delle soluzioni di acido fenico e cloridrico così fatte:

acido fenico	4,8 %	—	acido cloridrico	3,9 %
»	9,6 %	—	»	7,8 %
»	14,4 %	—	»	11,17 %

e dopo averle volta per volta ben agitate aggiungerne 1 cm. a 10 cm. di brodo già distribuito nelle provette.

Questi brodi sono, per quanto consta alla mia esperienza, superiori a quelli di Percé, Vincent, ecc. dei quali perciò non parlo.

2. *Il brodo al lattosio e alla laccamuffa, di Wurtz.*

Al brodo comune, si aggiunge il 2% di lattosio e tanta soluzione di laccamuffa sino a ottenere una colorazione violetta persistente dopo la sterilizzazione.

3. *Il brodo lattofenoltaleinizzato, di Abba.*

In 1000 cmc. di acqua si sciolgono 10 gr. di peptone Witte, 5 di NaCl, 20 di lattosio: si cuoce per 1/2 ora nella stufa, si sterilizza e si aggiungono 1/2 cm. di soluzione alcoolica di fenoltaleina all'1% e tanto di soluzione satura a freddo di carbonato sodico sino a che il brodo assume una tinta rosea decisa.

4. *Il brodo al liquido di Gram, di Besson.*

Si sciolgono a caldo 20 gr. di peptone Chapoteau, 5 gr. di NaCl, 2 gr. di fosfato di soda in 1000 gr. di acqua: si riscalda sino a 115°, si filtra, si distribuisce in recipienti in ragione di 10 cmc. per ciascuno, che si sterilizzano a 115°. Al momento di servirsene, ad ogni tubo si aggiungono tante gocce di liquido del Gram recente sino a che il liquido assume una leggera tinta bruno-rosea che scompare in 5-6 minuti (in genere 15-30 gocce).

Si può anche adoperare in mancanza d'altro il brodo ordinario, preferendolo non alcalinizzato, cui poi si aggiunge il liquido del Gram.

5. *Il brodo al fegato di vitello, di Cesaris-Demel.*

Si fa un infuso a freddo per 24 ore con 250 gr. di fegato fresco di vitello in 1000 cmc. di acqua: si cuoce, si aggiungono 10 gr. di peptone e 5 di cloruro sodico e si cuoce ancora, quindi si sterilizza nell'autoclave e si aggiunge il 2% di tintura neutra di tornasole: poscia si sterilizza definitivamente.

6. *Il siero di latte di Petruschy.*

Si diluisce del latte a metà con acqua, si acidifica leggermente con HCl diluito, si riscalda a 45°-50° per coagulare la cascina e si filtra. Il filtrato si alcalinizza con soluzione satura a freddo di carbonato sodico: si cuoce per 1-2 ore, si filtra e al filtrato che deve essere limpido si aggiunge tanta soluzione di laccamuffa sino a colorazione violetta; quindi si sterilizza.

7. *Il brodo con nitrati di Bleisch.*

A 160 cmc. di acqua si aggiungono 2 gr. di peptone secco Witte, 0,5 di NaCl e cmc. 2,5 di soluzione di nitrato potassico al 0,08%: si cuoce, si filtra, si sterilizza.

8. *Il liquido di Klopstock.*

In 100 cmc. di acqua si sciolgono ana 1 di lattosio, nutrosio, glucosio e 0,5 di cloruro sodico: si cuoce, si filtra, si aggiunge tintura di tornasole sino a colorazione violetta, e si distribuisce il materiale ponendolo preferibilmente entro i tubi a fermentazione.

*Terreni solidi gelatinizzati.*

1. *La gelatina al decotto di patate di Elsner.*

Si fa un infuso di 12 ore con 500 gr. di patate mondiate e tagliuzzate in 1 litro di acqua: il liquido decantato si aggiunge del 15-20% di gelatina dopo averne riportato il volume a 1000: si cuoce per qualche minuto e si alcalinizza con soda sino a reazione debolmente acida, si tiene nell'autoclave per pochi minuti, si filtra e si aggiunge una soluzione di ioduro di potassio al 10% nelle proporzioni di 1 di soluzione a 19 di gelatina.

2. *La gelatina di Grimbert in sostituzione della gelatina di Elsner.*

Si sciolgono in 1000 cmc. di acqua, 1 gr. di maltosio, 2 di amido solubile, 2 di asparagina, 2 di fosfato neutro di potassio, 2 di solfato di potassio, 2 di solfato di magnesia, 2 di bimalato di ammonio, 1 di carbonato di magnesia. A questo liquido si aggiunge il 15% di gelatina, si chiarifica con bianco d'ovovo, si riscalda a 115° e si filtra. Quindi si saggia l'acidità la quale deve essere tale che 10 cmc. della gelatina siano neutralizzate da 5 cmc. di acqua di calce. Si prendono perciò 10 cmc. di gelatina, si aggiungono 50 cmc. di acqua distillata si versa qualche goccia di fenoltaleina, e si aggiunge l'acqua di calce. Se per ottenere la neutralizzazione occorrono più di 5 cmc. di acqua di calce, si aggiunge alla gelatina della soluzione normale di soda quanto basta per ottenere tale risultato. Si aggiunge poi l'1% di IK o di Br K.

3. *La gelatina all'urina di Piorkowsky.*

Ad urina del peso specifico 1020, resasi spontaneamente alcalina, si aggiunge il 3,3% di gelatina e il 1/2 per cento di peptone, si fa bollire per 1 ora, si filtra e si sterilizza.

4. *La gelatina minerale di Remy e Sugg in sostituzione della gelatina di Piorkowsky.*

Si sciolgono in 1000 cm. di acqua 2 gr. di glucosio, 0,5 di peptone, 0,5 di asparagina, 6,75 di acido citrico, 0,5 di fosfato neutro di potassio, 0,25 di solfato di potassio, 0,25 di solfato

di magnesia. Si tiene nell'autoclave per un quarto d'ora, si versa in un pallone contenente 120-150 gr. di gelatina e si alcalinizza leggermente con soda. Si rimette nell'autoclave per 1 quarto d'ora e poi si acidifica con soluzione normale di acido solforico in modo che 10 cmc. di gelatina abbiano una acidità saturabile da cmc. 0,2 di soluzione  $1/2$  N di soda. Si agita, si cuoce per 10 minuti a  $100^\circ$  si filtra, si saggia l'acidità. Perciò 10 cmc. di gelatina si aggiungono a 100 di acq. distillata e si versa qualche goccia di soluzione di fenolfaleina: coll'aggiunta di cmc. 0,2 di soluzione  $1/2$  N di soda deve aversi una colorazione rossa. Si aggiungono allora altri gr. 2,50 di solfato di magnesia per litro, si divide in tubi in quantità di 10 cmc., si sterilizza e al momento di servirsene si aggiunge 1 cmc. di una soluzione acquosa di lattosio al 35 % e 0,1 di soluzione fenica al 2,5 %.

5. *La gelatina al decotto di carciofo di Roux.*

Si fanno bollire dei torsì di carciofo per 20 minuti in acqua: nel liquido che si ottiene si aggiunge il 10 % di gelatina: si cuoce, si filtra, si sterilizza e si fa solidificare a becco di flauto in provette.

6. *La gelatina al liquido di Cambier, di Tusini.*

Si preparano le tre soluzioni costituenti il liquido di Cambier:

Sol. acq. al 3 % di peptone	cmc. 1000
» 1 % soda caustica	» 88-120
» satura freddo di NaCl	» 88-120

si mescolano, si sterilizzano, vi si aggiunge il 3,3 % o il 10 % di gelatina e si filtrano.

*Terreni solidi agarizzati*

1. *L'agar al nutrosio e al violetto cristallizzato e alla laccanuffa, di Drigalsky e Conradi.*

A 1000 cmc. di brodo leggermente alcalinizzato si aggiungono 10 gr. di peptone, 10 di nutrosio, 5 di NaCl, 30 di agar; si tiene per 3 ore a  $100^\circ$ , si lascia sedimentare e si decanta. Si prepara d'altro canto una soluzione acquosa di laccanuffa secondo Kubel-Tiemann: 130 cmc. di tale soluzione si fanno bollire per 10 ore e si aggiungono con gr. 15 di lattosio dopo di che si cuoce per un quarto d'ora.

All'agar fluidificato si aggiungono 2 cmc. di una soluzione calda di soda al 10 % e la soluzione di laccanuffa lattosata fino a colore violetto e 10 cmc. di una soluzione calda e sterilizzata di cristallo-violetto B; all'0,1 %.

Il tutto si versa in capsule Petri.

2. *L'agar al rosso neutro o rosso di toluilene, di Rothberger.*

L'agar comune sterilizzato nelle provette si scioglie e vi si aggiungono 2-3 goccie di soluzione acquosa satura di rosso neutro o rosso di toluilene sterile. Si lascia raffreddare a  $40^\circ$  a cilindro e si semina con qualche ansa di brodocultura in brodo e subito si porta sotto un getto di acqua fredda per fissare il materiale inessato.

*Terreni solidificati con albumina d'uovo.*

1. *Albumine d'uovo all'infuso di caffè, di Puccinotti e Munnicchi.*

A 100 cmc. di albumine d'uovo si aggiungono 20 gr. di caffè crudo e vi si lasciano immerci per 2-3 giorni. Si filtra l'albumine attraverso garza asettica, si distribuisce in provette in quantità di 10 cmc. per provetta, si tiene a  $60^\circ$ - $65^\circ$  per due ore ogni giorno e per 6 giorni, si solidifica a becco di flauto o in piastre portando il materiale alla temperatura di  $70^\circ$ .

2. *Albuminato alcalino, al nutrosio, alla laccanuffa, all'infuso di caffè, ecc., di Casagrandi.*

Si prepara una soluzione di albumina d'uovo secca al 9-10 % in acqua distillata, si filtra, si aggiunge l'1 % di nutrosio e a ogni 125 cmc. di liquido da 4 a 5 cm. di soda caustica al 4 %, e poi, se si vuole, tanta soluzione di laccanuffa sino a colore violetto, si sterilizza a  $60^\circ$ - $65^\circ$  per vari giorni e si solidifica a becco di flauto o in piastre a  $70^\circ$ .

Si può anche preparare come col metodo Drigalsky e Conradi (adoperando la soluzione di laccanuffa e lattosio e violetto cristallizzato) o con l'infuso di caffè alla Puccinotti.

TERRENI DI CULTURE PER IL BAC. DELL'INFLUENZA.

Si prepara l'agar o il brodo aggiungendo qualche goccia di glicerina, in cui siasi fatto pervenire del sangue umano, di piccione o di coniglio (V. terreni di cultura del gonococco), oppure si aggiunge ai terreni di culture dell'ematogeno (che si ricava dal rosso d'uovo digerito con pepsina).

## TERRENI DI COLTURA PER IL B. DELLA TUBERCOLOSI.

*Agar all'albumosa, di Hesse.*

In 50 cmc. d'acqua si sciolgono a caldo 5 gr. di albumosa di Heyden e in altri 50 si sciolgono 5 gr. di NaCl, e 10 gr. di agar cui si aggiungono 30 cmc. di glicerina. Si mescola la prima soluzione alla seconda e si alcalinizza con soluzione di soda come si fa per alcalinizzare l'agar di Tialmann, si filtra e si sterilizza.

*Albuminato alcalino all'albumosa, di Casagrandi.*

Invece dell'agar, si può fare un terreno a base di albumina d'uovo secca sciolta in acqua alcalina, il quale si ottiene nello stesso modo indicato per il terreno del b. del tifo e del colera: soltanto si aggiunge, invece del nitrosio, l'albumosa di Heyden e una quantità di glicerina corrispondente al 30 %.

## TERRENI DI COLTURA PER IL B. DELLA LEPPA.

*Patate glicerinate neutralizzate.*

Si tagliano le patate olandesi a fette, e le fette si tengono immerse in una soluzione di glicerina al 6 % per 48 ore. Si saggia quindi la reazione del liquido: se acida si neutralizza con una soluzione di soda N, avendo cura di non oltrepassare il momento della neutralizzazione.

Quindi le patate si mettono in larghi tubi alla Roux la cui ampolla sia piena di glicerina al 6 %, neutralizzata, e con questo si bagna ogni tanto la superficie della patata.

*Brodo di pesce.*

Si fanno dei brodi di pesce, servendosi di pesce spada o di pesce tonno, così come si fanno i brodi di carne: questi si possono, filtrati e sterilizzati, adoperare tali e quali oppure aggiungere di glicerina al 5 % e di glucosio all'1-2 %.

## TERRENI DI COLTURA DEL BACILLO DELLA DIFTERITE.

*Agar all'urina, di Schloffer.*

Si prepara dell'agar peptonizzato al 2 %, col 6 % di glucosio e a due parti della stessa fluidificata a 40° si aggiunge 1 parte di urina sterilizzata e portata alla stessa temperatura.

*Urina al peptone e alla glicerina, di Casagrandi.*

Si aggiunge a 100 cmc. di urina, della densità di circa 1020, 1 gr. di peptone o di estratto di carne Liebig, si fa bollire per un'ora a bagnomaria, si filtra, si distribuisce in provette il liquido e si sterilizza.

*Albumine d'uovo con urina al peptone, di Casagrandi.*

Dell'albumine d'uovo si diluisce a parti uguali col liquido precedente, si filtra, si distribuisce in provette e si sterilizza a 100°.

Con la sterilizzazione frazionata alla temperatura di 60°-65° si può anche ottenere trasparente.

## TERRENI DI COLTURA DEL V. DEL COLERA.

*Acqua peptonizzata salata di Dunham-Koch.*

A 100 cmc. di acqua si aggiungono 1 gr. di peptone secco Witte e 1 gr. di NaCl, si alcalinizza con soluzione saturata a freddo di carbonato sodico, si filtra e si sterilizza.

## TERRENI DI COLTURA PER LA DIAGNOSI DIFFERENZIALE TRA B. DEL CARBONCHIO, B. SOTTILE ECC.

*Liquido di Fiore.*

Si fa una soluzione di acido amidosuccinico gr. 0.60 in 100 cmc. di acqua distillata e si aggiunge di gr. 0.025 di solfato di magnesio e di gr. 0.05 di fosfato di sodio, neutralizzando la soluzione con qualche goccia di ammoniaca diluita. Si filtra e si sterilizza.

## TERRENI DI COLTURA DELLE MUFFE, DEI BLASTOMICETI E DEGLI OIDI.

Sono in genere gli stessi terreni dei batteri, acidificati con acido citrico, tartarico o anche spontaneamente acidi.

Per le muffe serve bene il liquido minerale del Raulin. Per i blastomiceti l'acqua di malto, il mosto di birra, gli infusi di frutta seche, i decocti di carota di rapa o di barbabietola.

Tutti questi terreni possono essere sostituiti dal brodo acido glucosato e dall'agar acido glucosato secondo Casagrandi.

Si prepara una soluzione di glucosio al 50 % e di acido tartarico al 10 %, e 4-6 gocce si aggiungono a 5-6 cmc. di brodo ordinario oppure di agar ordinario, portando ambedue le soluzioni alla temperatura di 40° e poi per 10 minuti a 100°.

Si può anche avere un ottimo terreno per lo sviluppo di questi germi, prendendo 1000 cmc. di decotto di patate (aggiunto di 20 gr. di peptone e 100 di glucosio) terreno che si può solidificare con agar o con agar-fucus a parti uguali e aggiungere dopo filtrato e sterilizzato con acido tartarico in soluzione acquosa al 10 %.

## II. Tecnica per l'isolamento e la coltivazione dei batteri.

### a) ISOLAMENTO DEGLI AEROBI.

1. Per isolare i germi si è per molto tempo adoperato il *metodo per diluizione nei terreni liquidi*. A tal uopo si distribuiva in una serie di palloncini il liquido nutritivo in quantità di 10-15 cmc. per ciascuno, si faceva pervenire un certo numero di gocce del liquido contenente i germi in un primo recipiente, da questo si prendevano due gocce e si facevano pervenire in un secondo, da questo tre in un terzo e così via dicendo, fino a raggiungere il numero delle gocce fatte pervenire nel primo.

2. Oggi per questo procedimento non si usa più preferendosi il metodo indicato dal Koch, cioè l'isolamento in substrati solidi, fluidificati al momento dell'innesto ossia le così dette *culture per diluizione a piatto*.

A tal uopo occorre anzitutto preparare il mezzo per prelevare il materiale. Questa prelevazione può farsi con aghi di platino, di vetro o colle pipette Pasteur. L'istrumento migliore è l'*ago di platino iridiato* e montato su bacchetta di vetro (cioè che si fa scaldando l'estremo della bacchetta al color rosso ad una fiamma Bunsen e poi infilandovi per breve tratto l'ago scaldato). Generalmente occorrono due aghi, uno grosso e uno sottile: quest'ultimo per prelevare materiali liquidi, il primo per fare infissioni e prelevare materiali più densi. Ambedue a seconda dei casi si adoperano dritti (v. fig. 98) o foggiate ad uncino o, come si fa più comunemente ad ansa (v. fig. 98). Per farla, si prende l'estremo dell'ago fra il pollice e l'indice della mano destra e colla sinistra si fa fare alla bacchetta di vetro un mezzo giro in avanti e poi indietro; e siccome così si ha un'ansa aperta, per completarla si stringe tra due dita.

Prelevato il materiale, si trasporta nei terreni di cultura, i quali terreni si trovano generalmente nei comuni tubi da saggio chiusi con tappi d'ovatta oppure nei palloncini di Miquel, i quali si differenziano per avere il collo a smeriglio chiuso da un cappuccio terminante in alto in un tubo che va otturato da battuffolino di ovatta, ovvero nelle bottigliette del Roux a forma cilindrica, ecc.

Per aprire questi recipienti, se si tratta di provette, come è il caso comune, si prendono queste tra il pollice e l'indice della mano sinistra (fig. 130). Si sterilizza il tappo bruciandolo

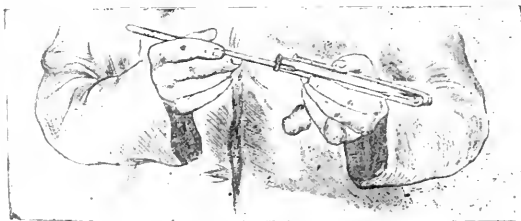


fig. 130.



alla fiamma, lo si afferra col pollice e l'indice della mano destra e girandolo attorno al suo asse si estrae; si introduce e quindi si sbatte nel liquido l'ago già sporco del materiale da seminare: quindi si brucia il tappo, si chiude il tubo e si sterilizza l'ago. Se il recipiente è rappresentato da fiaschette del Roux, se ne afferra il corpo fra l'indice il medio e l'annulare della mano sinistra, (fig. 131) se ne toglie il cappuccio colla mano destra e si mette tra il pollice e mignolo della mano sinistra, e quindi si fa l'innesto nella solita maniera.

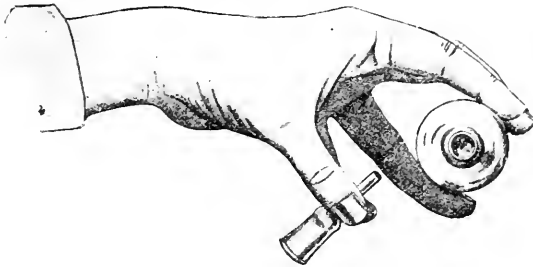


fig. 131.

Ciò posto, quando si procede all'isolamento dei germi col metodo di Koch, si prendono tre tubi di gelatina o di agar fusi, si introduce nel primo tubo l'ago di platino foggiato ad ansa, sporco di materiale inquinante, dal primo tubo si prelevano due anse che si passano in un secondo e da questo tre anse che si passano in un terzo, avendo cura di sbattere ogni volta l'ago entro il substrato. Quindi i tre tubi si vuotano in altrettante capsule Petri, nelle quali il substrato si lascia solidificare. Così i germi, separati l'uno dall'altro, rimangono impigliati nel substrato solido e si moltiplicano ciascuno per proprio conto formando colonie a sè (fig. 132).



fig. 132.

Le capsule di Petri (fig. 133) più usate sono quelle a bordi dritti, del diametro di circa 9-10 cm. (a) e non le muove a pareti oblique, a coperchio giallo e incavato (b).

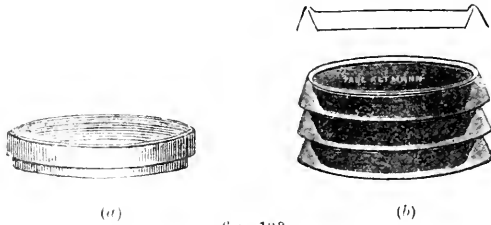


fig. 133.

Prima di esse si adoperavano le lastre di Koch, ossia delle lastre di vetro che si ponevano sopra un vetro perfettamente in piano, perché poggiante sopra un trepiedi livellabile coll'intermezzo di un recipiente contenente ghiaccio o neve (fig. 134); ma queste lastre di Koch non vengono più usate nella pratica per la difficoltà tecnica e per i possibili e facili inquinamenti.

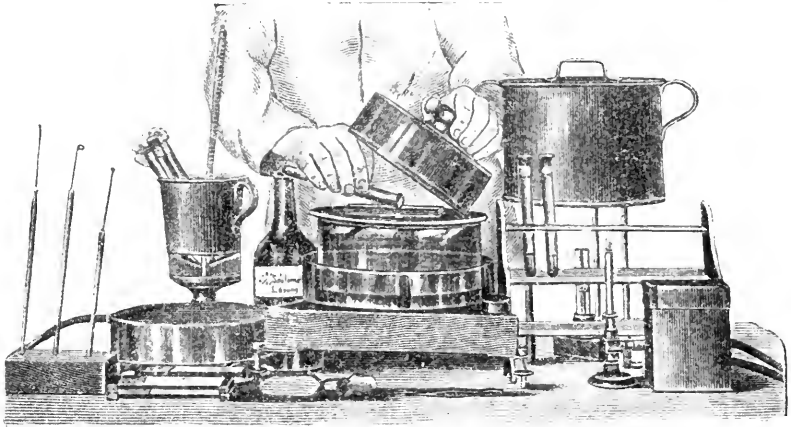


fig. 134 (da Heim).

Invece delle capsule del Petri, si possono però adoperare le fiaschette del Roux, o quelle del Petri e del Roszahegy, nelle quali si pone, prima dell'innesco, gelatina o agar che si fluidifica a bagnomaria; innestata che sia, non si versa in altro recipiente, perché basta disporre le fiaschette in piano sopra al tavolo e lasciare che il substrato si solidifichi, per ottenere delle culture a piatto. Le fiaschette del Roux hanno la forma delle bottiglie dei sali di Karlsbad, (fig. 135) le fiaschette del Petri sono palloncini schiacciati a pareti parallele ed hanno da una

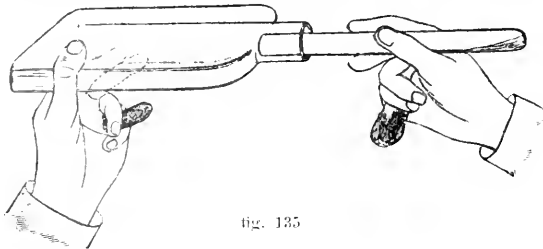


fig. 135

parte vicino al collo nell'insensatura, la quale impedisce al materiale di cultura di scorrere sul tappo: le fiaschette del Raszahegy (fig. 136) sono simili alle ultime, ma con una delle superfici piane divisa in quadratini di 1 cm. di lato, ciò che è utile per il conteggio delle colonie.

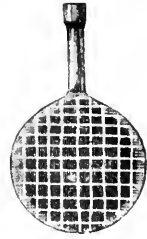


fig. 136.

In quanto ai particolari della tecnica occorrente per fare le colture piatte in capsule di Petri è anzitutto necessario fluidificare a 40° C in un bagnomaria, mai alla fiamma, tre tubi di gelatina o a 100° tre di agar. Ottenutane la fluidificazione, si lascino raffreddare sino a che la temperatura della gelatina sia intorno a 30° e quella dell'agar a 40° C. (temperatura occorrente a mantenere fluido l'agar). Si pongono allora fra il pollice e l'indice della mano sinistra, in modo che l'apertura di essi guardi il palmo della mano: si prende con l'altra mano l'ago di platino, si sterilizza, si bruciano quindi tutti i tappi dei tubi che si spengono colle dita e si tolgono uno ad uno mettendo il primo fra l'indice e il medio, il secondo fra il medio e lo anulare e gli altri fra l'anulare e il mignolo della mano stessa (v. fig. 127) oppure, ma meno bene, nel palmo della mano (fig. 137). Ciò fatto si torna a sterilizzare l'ago, si in-



fig. 137.

quina col materiale e si innesta nei tubi nel modo indicato, quindi si rimettono i tappi nei rispettivi tubi. Ad uno ad uno poi si riaprono, si bruciano i bordi delle provette alla fiamma, e il materiale si versa nelle diverse capsule Petri, procurando di farlo distendere in esse ugualmente, coll'imprimere un movimento adatto alle capsule stesse.

In alcuni casi, invece del metodo per diluizione, se ne usano altri per isolare i germi.

3. Evvi il così detto *metodo per strisciamento* che consiste nel fare delle strie sul terreno nutritivo con la punta dell'ago di platino o con una spatola imbrattata del materiale inquinato. Perciò si versa della gelatina o dell'agar in una capsula Petri e si aspetta che solidifichi, poi con l'ago infetto si fanno sul materiale di nutrizione delle strie parallele, quindi si gira la capsula di 90° e si fanno strie perpendicolari alle prime. Si può ancora girare la capsula di altri 30° e tracciare altre strie e così via fino a formare come un reticolato (fig. 138).

4. Evvi anche il così detto *metodo per distendimento*. Si prendono tubi di agar solidificati a becco di flauto, contenenti acqua di condensazione, nella quale s'immerge l'ago infetto e da un primo tubo si passa a un secondo, da questo a un terzo, da questo ad un quarto; poi inclinando e roteando ciascun tubo

si procura che l'acqua di condensazione bagni completamente il becco di flauto; quindi si rimette in posizione verticale.



fig. 138.

#### b) ISOLAMENTO DEGLI ANAEROBI.

Si usò isolare i germi ossigenofobi facendo delle piastre col metodo del Koch e poi coprendole con mica o vetro; ma non è un procedimento conveniente, perchè facilmente si sviluppano anche germi aerobi tra i due strati di agar.

Per la stessa ragione, usando dell'agar come terreno di nutrizione e adoperando le capsule del Petri, non basta coprire con uno strato di agar sterile quello già innestato.

Ci si può servire piuttosto di provette. A tal uopo si prendono dei tubi di agar e dopo averli fatti bollire, si lasciano raffreddare a 40°, quindi si innestano col metodo delle diluizioni, già indicato per le piastre degli aerobi. Soltanto l'agar non si versa in capsule, ma si lascia nei tubi che rapidamente si raffreddano in un bagno d'acqua. Ciò fatto si versa sull'agar solido altro agar liquido o paraffina od olio o vasellina bollente e si chiudono con tappo di ovatta e con tappo di gomma.

Nella massa dell'agar si sviluppano allora le colonie separate le une dalle altre. Quando ciò si è ottenuto, si lima il tubo in un punto e con un carbonetto Berzelius si rompe, si estrae il tampone di agar, che si fa pervenire in una capsula di Petri, dove con bisturi sterile si taglia a dischi in maniera da poter osservare le colonie in piano.

Si può anche scaldare il fondo del tubo ad una fiamma e far schizzare il tampone di agar in una capsula; in tal caso bisogna tenere il tubo con una pinza di legno vicino al suo bordo, e questo introdurre tra il coperchio e il fondo della capsula: man mano che il tampone si stacca, se ne agevola l'uscita col tenere il tubo per un tratto più o meno grande sopra la sorgente calorifera.

Migliori risultati però si ottengono mettendo le piastre entro apparecchi nei quali il substrato nutritivo rimane fuori dal contatto dell'ossigeno dell'aria.

I metodi per raggiungere questo scopo sono molteplici: fare il vuoto nel recipiente seminato, scacciare l'aria per mezzo di gas inerti, assorbire l'ossigeno con sostanze chimiche, ecc.

*Procedimento col vuoto:*

Per fare il vuoto possiamo servirci della pompa a mercurio, della pompa ad acqua a caduta o a ricaduta, dell'ebollizione.

Come pompa è utile quella a caduta d'acqua rappresentata da un imbuto di vetro contenuto in un manicotto di vetro anch'esso, che vicino all'estremità dell'imbuto si restringe fin quasi a prendere il diametro di esso, e che per mezzo di un tubo laterale si mette in comunicazione con un manometro e col recipiente, nel quale si vuol fare il vuoto (v. microscopia fig. 64-a). Una colonna d'acqua, passando per l'imbuto e la parte stretta del manicotto, produce il vuoto che sarà maggiore o minore a seconda dell'altezza della colonna d'acqua: se questa è di 11 m., il vuoto corrisponderà pressochè ad una atmosfera.

Nella pompa a ricaduta l'acqua penetra direttamente nel manicotto e da questo forma una colonna di caduta che fa il vuoto nel manicotto e quindi in un tubo che è in questo e che comunica con un manometro e col vaso, dal quale deve aspirarsi l'aria.

*Sostituzione dell'aria con gas inerti.*

Il metodo più diffuso è quello di sostituire l'aria con dei gas. Si usano dei recipienti cilindrici a collo stretto, chiusi a mezzo di un tappo di gomma munito di due tubi, dei quali uno si spinge fino al fondo del vaso. Entro questo si mette il liquido di nutrizione, e subito dopo si fa comunicare il tubo più lungo colla sorgente di un gas che così va a sostituire l'aria del pallone (fig. 139); nello stesso modo col metodo di Fränkel si scaccia l'aria non solo da recipienti grandi contenenti substrati liquidi ma da piccoli contenenti substrati solidi.

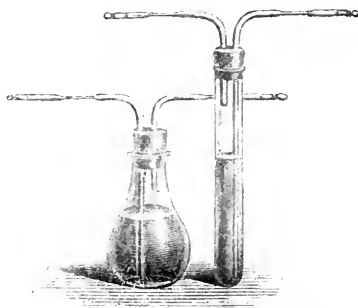


fig. 139.

I gas che si è consigliato sostituire all'aria sono l'idrogeno, l'acido carbonico, e il gas illuminante; ma questi due ultimi non sono oggi più in uso, perchè dotati di una certa azione antibatterica.

Nella pratica ordinaria si fa svolgere l' H da un apparecchio di Kipp e si può far pervenire nelle provette che è bene siano a collo strozzato, cosiddette di Gruber (fig. 140) e durante l'accesso del gas si fa l'innesto: quindi si fonde il collo e si chiude alla lampada. Solo



fig. 140.

bisogna aver cura che all' H non sia mescolata aria per non aversi il miscuglio tonante, ciò che si evita facendo passare il gas per un certo tempo, e non direttamente dall'apparecchio (fig. 141).



fig. 141.

*Procedimento coll'assorbimento dell'ossigeno.*

Invece di sostituire l'aria con altri gas, il Buchner ha pensato di assorbire l'ossigeno con speciali sostanze e proprio con una soluzione acquosa di acido pirogallico alla quale si aggiunge della potassa.

Egli pone la detta soluzione in fondo a dei recipienti cilindrici, nei quali introduce i tubi innestati e chiusi: poi tappa il vaso con disco smerigliato spalmato di vasellina. L'ossigeno è man mano assorbito dalla soluzione, che assume colorito marrone sempre più oscuro fino al nero. In caso che i tubi seminati sieno molti o si tratti di piastre, si può usare un grande recipiente.

*Procedimenti combinati.* — Nei laboratori si combinano insieme questi vari procedimenti servendosi di apparecchi speciali. Così ci si può servire di una campana a bordo smerigliato poggiante sopra un tavolo di vetro fornita di

un tubo con rubinetto. Posta la coltura sul piano di vetro, si copre con la campana, la quale può farsi aderire completamente mediante vasellina e cera vergine, e quindi si fa il vuoto.

È bene che sotto la campana si sia messa anche una soluzione acquosa di acido pirogallico con potassa e un piccolo manometro (fig. 142).

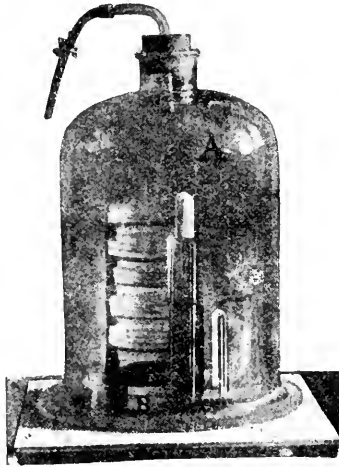


fig. 142.

Noi ci serviamo ordinariamente degli essiccatori di Scheibler (fig. 143-*a*) o di Hempel (fig. 143-*b*) che si possono anche portare in termostato pieni dei tubi o delle piatte innestate.

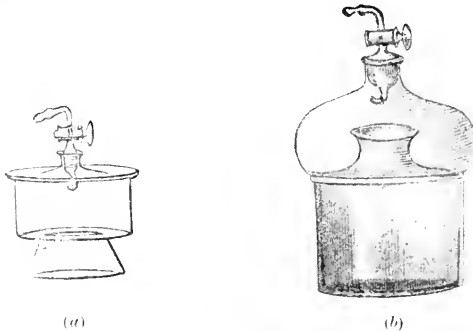


fig. 143.

Volendo sostituire all'aria dell'idrogeno, l'apparecchio del Petri rappresenta ora il desideratum per un laboratorio. Esso consta di un piano di vetro sul quale poggia una campana aperta in alto e munita di un tappo attraversato da due tubi, di cui uno giunge sino al fondo del recipiente e l'altro

appena debole dal tappo; da questo si fa il vuoto e dall'altro si fa entrare l'idrogeno.

Per giudicare quando l'aria sia tutta stata scacciata, si pone dentro l'apparecchio una vaschetta contenente potassa al 60% nella quale si pongono delle listarelle di carta imbevuta di acido pirogallico, la vaschetta essendo fatta in modo che le listarelle non vengano ad essere bagnate dalla potassa, se non quando a bella posta si inclini l'apparecchio.

Quando si giudica l'operazione finita, ossia che l'aria sia completamente sostituita, spostando alquanto l'apparecchio, la potassa bagna una listerella di carta: se questa non si abbrunisce si può ritenere l'aria tutta scacciata.

Si può però molto semplicemente nella pratica improvvisare un apparecchio ponendo una campana sopra un bagno di olio di vasellina o di mercurio e facendo passare entro la campana due tubi di cui meglio un tantino più lungo dell'altro: da questo si fa entrare l'H, dall'altro si fa uscire: dopo il tempo voluto si chiudono i tubi di gomma adattati esternamente ai tubi di vetro. È questo il metodo del Botkin (fig. 144).

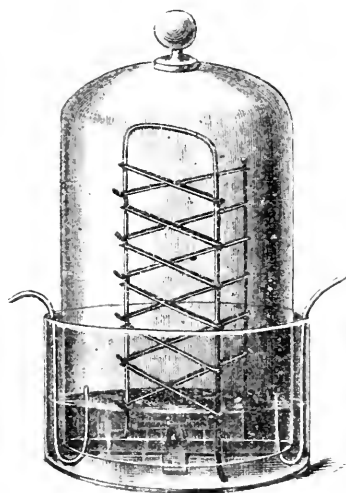


fig. 144.

Entro al recipiente si può prima porre una vaschetta con acido pirogallico e potassa sopra apposito sostegno.

#### c) COLTIVAZIONE DEGLI AEROBI.

Le colture degli aerobi, si fanno: in brodo; in gelatina a piatto e per infissione; su agar, su siero albuminato, solidificati a becco di flauto; su patate, ecc.; a goccia pendente.

Per fare le colture in brodo, si tocca con l'ago di platino sterile il materiale contenente il germe da studiare in coltura pura e poi si dibatte nel brodo l'ago di platino per pochi secondi.



Per le colture *in gelatina a piatto*, si opera come si fa per ottenere le colonie separate dei germi, cioè per isolarli.

Per le colture *in gelatina od agar per infissione*, si tocca coll'ago diritto il materiale infetto e lo si innesta nel cilindro di gelatina od agar, avendo cura di introdurlo nel centro dello stesso e cercando di raggiungere il fondo della provetta, senza deviare (fig. 145).

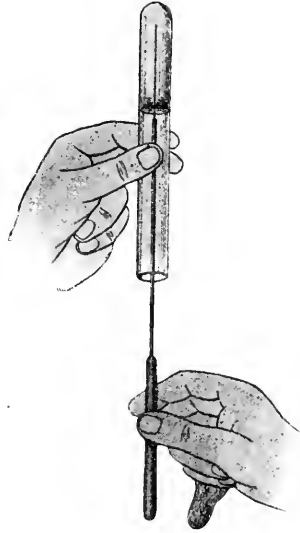


fig. 145

Per le colture *a strisciamento su agar, albuminato, patate*, ecc. si tocca il materiale infetto con l'ago diritto o ad ansa e si striscia sul terrono di nutrizione, facendo una stria rettilinea o serpiginosa incominciando dal fondo.

Nel fare queste operazioni, i tubi si tengono fra il pollice e l'indice della mano sinistra (v. fig. 128), si tolgono i tappi bruciati e si pongono fra le altre dita, tenendo rivolta in basso la parte da introdurre nei tubi, mentre con la mano destra si tiene l'ago.

Fatti gl'innesti, si richiudono i tubi coi tappi che si passano direttamente alla fiamma per bruciarli. Se il materiale inquinante trovasi in tubi, questi si pongono accanto a quelli da innestare tra il pollice e l'indice della mano sinistra; se si trovano in capsule queste si lasciano sul tavolo, si scoprechiano alquanto e nello spazio libero si introduce l'ago. Si può anche mettere il tubo da innesto tra il medio e l'anulare e l'indice della mano sinistra, poi col pollice e il mignolo si alza il coperchio, mentre colla mano destra, tolto il tappo alle provette, si introduce l'ago di platino nella capsula, lo si inquina e s'innesta il tubo. Quindi si rimette il tappo con la stessa mano.

Altri, del resto, consigliano di tenere i tubi in altro modo: nella palma della mano (v. fig. 135), tra le dita, ecc.; tutto sta nel seguire una tecnica che permetta di operare, evitando quanto sia possibile gli inquinamenti, dando la maggior libertà ai movimenti, e lasciando vedere ciò che si fa.

Allorchè non si deve osservare lo sviluppo macroscopico del germe, va fatta la semina *a goccia pendente*.

Per i germi aerobi si fanno come le gocce pendenti ordinarie: soltanto nel fare queste colture è necessario usare tutte le precauzioni, perchè la goccia non venga deposta sul vetrino in diretto contatto coll'aria sovrastante. Quindi il vetrino coprioggetti sterilizzato alla fiamma, si prende con una pinza Cornet, che si pone al bordo di un tavolo; poi con un tubo di vetro tirato alla lampada e ripiegato ad angolo si aspira del materiale infetto così da riempire il corpo del tubo più che sia possibile; si avvicina l'estremo di questo alla superficie inferiore del vetrino suddetto, si provoca la fuoriuscita di una gocciolina di liquido che si attacca al coprioggetti (fig. 146); si adatta infine

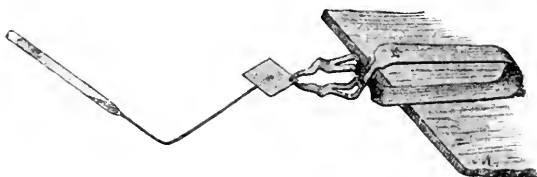


fig. 146.

questa sul portoggetti speciale (v. fig. 99). Non rimane dopo ciò che l'osservazione al microscopio, continuata per un certo tempo per vedere il modo di svilupparsi del germe.

#### d) COLTIVAZIONE DEGLI ANAEROBI.

Nella pratica giornaliera i procedimenti più adottati sono i seguenti:

1. *Per la semina su piastre di gelatina od agar.* — Nel substrato nutritivo bollito e lasciato raffreddare a 40° C. si inestano i germi, indi il materiale si versa in scatole di Petri e, appena raffreddato, si versa sulla capsula uno strato di agar o gelatina calda.

Prima che si raffreddi, si pone la capsula entro un comune essiccatore da chimica, in fondo al quale si è in precedenza versata una soluzione di acido pirogallico e al momento della chiusura un po' di potassa. In fondo allo stesso recipiente è bene vi siano dei frammenti di vetro.

Se l'essiccatore è fornito di un rubinetto, è consigliabile di fare il vuoto per mezzo di una pompa.

In questo istituto invece degli essiccatori comuni si adoperano quelli di Hempel (v. fig. 142-b) e la soluzione di acido pirogallico si pone soltanto nella cupola dell'apparecchio, perchè se si pone anche in fondo all'apparecchio, mentre si fa il vuoto, la soluzione può spruzzare contro le pareti e può anche entrare nelle capsule.

È anche utile di sostituire al rubinetto a smeriglio un tappo di gomma ad un sol foro, attraversato da un tubo di vetro, il quale porti una dilatazione che si riempie di ovatta. Questo tubo di vetro, fatto il vuoto, si fonde nel suo estremo libero.

Per ovviare poi all'inconveniente che nel punto di unione del coperchio col corpo dell'essiccatore, a lungo andare, penetri dell'aria, è consigliabile, ma non indispensabile, di adattare esternamente un anello di gomma.

2. *Per allestire colture ad infissione in gelatina o in agar od in generale colture in terreni solidi entro provette.* — Nel substrato nutritivo bollito e lasciato solidificare, dopo praticato l'innesto, si versa altro agar o gelatina e, sempre prima che questa solidifichi, si chiude con tappo di ovatta sterilizzata il quale viene spinto alquanto dentro al tubo che si chiude, poi con un tappo di gomma attraversato da un tubo di vetro; questo si attacca alla pompa per farvi il vuoto e, ottenutolo, si fonde alla lampada il tubo di vetro.

Invece di operare in tal guisa, i tubi si possono collocare, senza il tappo di gomma, addirittura in un recipiente Hempel, contenente acido pirogallico e potassa e messo in comunicazione con una pompa da vuoto.

3. *Per allestire colture in brodo.* — Se le colture si vogliono fare entro provette da saggio, il metodo migliore consiste nel fare bollire il liquido e, appena raffreddato, innestarlo e poi subito chiudere il tubo spingendovi dentro un tampone di ovatta e applicando un tappo di gomma attraversato dal relativo tubo di vetro che si innesta alla pompa per il vuoto. Ottenuto questo, si chiude il tubo alla lampada e si pone o tal quale nel termostato, o meglio entro un apparecchio Hempel in cui si fa il vuoto, come si è più volte detto. Per eccesso di precauzione, prima di porre il tampone di ovatta, si può anche versare nel tubo dell'olio di vasellina bollito, ma è un procedimento che non è strettamente necessario.

Quando poi si debbano allestire colture in grande, in palloni, o in Erlenmeyer, occorre seguire altri procedimenti.

Alcuni, innestati i palloni, vi fanno il vuoto attaccandoli alla pompa, fondono il collo alla lampada e li chiudono. Però quando si devono aprire occorre romperne il collo. È meglio quindi in questi casi applicare al collo del recipiente un tappo di gomma a un foro nel quale si innesta un tubo di vetro che si applica alla pompa per fare il vuoto ed ottenuto questo, si chiude il recipiente fondendo il tubo di vetro.

Per ovviare poi all'inconveniente che col tempo, nel termostato, l'aria finisce con l'entrare, si può fare un cappuccio al tappo stesso con un mastice adatto, per es. di pece e cera vergine.

Volendo poi essere sicuri che assolutamente non penetri aria nel matraccio, si può seguire il consiglio dato da Ampola e Ulpiani d'immergere il pallone rovesciato in un cilindro contenente dell'olio, ma ciò non si fa mai.

4. *Per allestire colture a goccia pendente.* — Si usano delle cellette di Böttcher al cui cerchietto sono adattati due tubetti pure di vetro uno da un lato, l'altro dall'altro. Per uno dei tubicini si fa entrare dell'idrogeno adattandovi un tubo di gomma e quando si crede che tutta l'aria contenuta nella piccola celletta da cultura sia stata scacciata, si stringono con pinze i tubetti di gomma.

È meglio però servirsi delle camere di Böttcher sui vetrini di Ranvier seguendo il metodo da me indicato per studiare il movimento degli anaerobi a goccia pendente.

### III. Tecnica per l'incubazione delle colture batteriche.

Volendo poi ottenere le colture sia degli anaerobi che degli aerobi, occorre tener presente che i substrati semenzati vanno posti in condizioni di temperatura che si avvicinino all'ottimo adatto al loro sviluppo (la così detta temperatura eugenesica per distinguerla dalle altre dette disgenesiche), il quale ottimo in genere si aggira per i germi patogeni intorno ai 37° C. (35°-37°) come si può rilevare dal seguente quadro.

TAB. 13.

Batteri patogeni	Temperature in gradi C.		
	eugenesica	disgenesiche	
	ottima	massima	minima
Stafilococco . . . . .	35-37	44	45
Streptococco . . . . .	37-38	46-47	48-20
Diplococco . . . . .	35-37	42	22-24
Gonococco . . . . .	36-37	39	21-25
B. coli . . . . .	25-37	46.5	4
B. tifo . . . . .	39-37	46	4
B. influenza . . . . .	37	42-43	26-27
B. morva . . . . .	35-38	42	25
B. peste . . . . .	(20) 35-37	41 (?)	4-5
B. difterite . . . . .	31-37	40 (42)	48-20
B. tubercolosi umana . . . . .	37-38	41	28-30
B. tubercolosi aviaria . . . . .	37-38	44-45	29
Actinomyces . . . . .	37	40-50	20
Carbonchio ematico . . . . .	35-37	43-45	42
Carbonchio sintomatico . . . . .	37	44 (?)	48
Edema maligno . . . . .	37	44	45
Tetano . . . . .	38	43	44
Vibrione del colera . . . . .	37	40	8-12

A tal uopo si mettono nei così detti *termostati*, che sono recipienti cilindrici o cubici, a doppia parete, nella cui intercapedine si pone acqua o si lascia l'aria.

Oggi nei laboratori di batteriologia si usano i termostati ad acqua, e ad aria (1).

In quelli ad acqua nello spazio compreso fra le due pareti si mette acqua, che deve essere distillata e bollita, e per evitare depositi e per cacciare l'ossigeno, che altrimenti renderebbe difficile in primo tempo regolare la temperatura.

In uno dei fori comunicanti coll'interno si introduce un termometro. In un altro comunicante con l'intercapedine, si introduce il termoregolatore, cioè uno strumento che riscaldando le variazioni di temperatura del mezzo che è nell'intercapedine permette che alla lampada affluisca più o meno gas.

Di termoregolatori ve ne sono a mercurio, ad alcool, ad alcool e mercurio metallici e a pressione idrostatica.

(1) Si usano anche, in mancanza di meglio, termostati semplicissimi di legno con una tubatura nel mezzo, sotto la quale si mette una lampada, nonché come camera di incubazione, di un apparecchio nel quale si pongono dei topi (*mus musculus*) i quali possono vivere in uno spazio limitato anche agglomerati, purché non manchi loro nutrimento. Proporzionando il numero di essi all'ambiente, il Parinotti ha potuto avere una temperatura costante di 15-20-30-38° C. nonché temperature intermedie.

*Termoregolatore di Reichert.* È quest'apparecchio costituito da un tubo cilindrico, terminante dalla parte inferiore in un grande bulbo, avente verso la metà una branca trasversale che porta una vite, e presso l'estremo superiore un'altra branca libera. Presso che a distanza uguale fra le due branche si trova una strozzatura nel lume del cilindro. L'apertura di questo è chiusa a smeriglio da un tappo a T vuoto, del quale la branca verticale si affina a cono, terminando in una piccola apertura e porta in alto lateralmente un forellino. Delle branche verticali, una termina a fondo cieco, l'altra è aperta.

Si riempie il detto apparecchio di mercurio fin quasi a chiudere l'apertura inferiore del tappo, e s'introduce per uno dei fori soprariocordati, fino a far pescare gran parte del bulbo nel liquido contenuto nello spazio interparietale; si adatta alla branca laterale più alta un tubo di gomma in comunicazione colla lampada, e un altro tubo di gomma in comunicazione con una sorgente di gas, si adatta alla branca trasversale aperta del tappo.

Portato il termostato alla temperatura voluta, facendo girare la vite della branca laterale più bassa, si innalza il mercurio fino a chiudere completamente l'apertura inferiore del tappo. Allora la fiamma della lampada è solo nutrita dal gas che passa pel forellino laterale della branca verticale del tappo: se così è sufficiente a conservare costante la temperatura del termostato, rimane tale; se è insufficiente, si aumenta, perchè il mercurio si abbassa svitando alquanto la vite, e così si libera più o meno l'apertura inferiore del tappo, dando libero passaggio al gas.

*Termoregolatore di Soxhlet.* Consiste in un tubo ripiegato ad S con una branca aperta in alto e svasata, la quale viene chiusa da un tappo di gomma traversato da un tubicino che ha l'estremo inferiore tagliato a becco di clarino, e possiede nella parte alta al disotto del tappo un forellino. Si riempie di alcool ed etere tutta la branca terminante nel bulbo, e poi si versa del mercurio fino a riempire gran parte della branca superiore e si tappa in modo che il tubicino venga a sfiorare il menisco del metallo coll'estremo inferiore, mentre il superiore è innestato a un tubo per cui passa del gas, che va alla lampada per altro tubo di gomma adattato alla diramazione laterale di cui in alto è fornito l'istrumento. Allorchè il termostato si è portato alla temperatura voluta, s'immerge nel mercurio tutto l'estremo inferiore del tubicino allo scopo di ottenere l'effetto di cui sopra.

*Termoregolatori metallici.* Ricordo senza descrivere quello di Arsonval e quello di Roux, dei quali quest'ultimo va specialmente raccomandato. Esso serve ottimamente per i termostati ad aria, che per i laboratori sono i più comodi.

Nella pratica giornaliera, non avendo gas, si può usare una lampadina ad olio, che secondo la necessità si abbassa o si alza, oppure di un *termoregolatore a benzina*, secondo Gazzarini (fig. 147). In questo caso il termostato presenta nel fondo un foro chiuso da una membrana

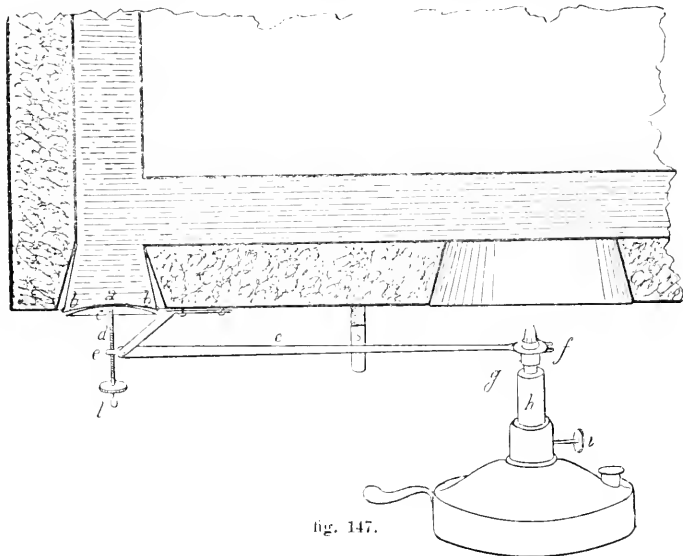


fig. 147.

alla quale aderisce una piccola lamina che porta un vetrino d'orologio colla concavità rivolta in basso. Questo vetrino focca un'asticella metallica ingrossata con una leva che termina in una forcchetta innestata alla lampada a benzina. per mezzo di un manicotto esterno al becco. Allorchè l'acqua riscaldandosi si dilata, spinge in giù la membrana che premendo sulla leva fa sì che questa innalzi il suddetto manicotto, ciò che porta un impieciolimento della fiamma.

Si sono anche costruiti dei termoregolatori ad acqua calda non avendo il gas a disposizione, termoregolatori metallici per riscaldamento a petrolio, ecc.

#### D. — Attività chimiche dei batteri.

I batteri sono capaci di una serie di attività chimiche, che si esplicano con la produzione di alcali, acidi, basi, pigmenti, coi più diversi processi di scomposizione organica, con fermentazioni.

1. PIGMENTI. — I batteri, dal punto di vista della produzione del pigmento, si distinguono in: *cromogeni* e non *cromogeni*.

I batteri cromogeni possono produrre un pigmento giallo, rosso, verde, aranciato, bruno, turchino, violetto ed indaco.

I *cromogeni* si distinguono poi alla loro volta in *cromofori* e *cromopari*.

Sono *cromofori* quei batteri che posseggono entro di loro il pigmento per es. i batteri sulfurei: sono *cromopari* quelli che lo secernono al di fuori del loro corpo: soltanto il violaceo, che si riscontra spesso nell'acqua, lo tiene nella membrana.

La natura del pigmento pare che non sia uguale in tutti, per es. la piocianina, quel pigmento bleu che produce il b. piocianico, per cui si colora in bleu alcune volte il pus, sarebbe una sostanza basica: quello del b. prodigioso, una sostanza albuminoidea e quello che nei batteri sporigeni serve ad attirare i raggi solari sarebbe costituito di sostanze grasse.

I pigmenti si producono in condizioni speciali, che variano per ogni germe: alcuni, e questi sono quelli che vivono alla superficie del suolo e dell'acqua, per produrlo hanno bisogno di luce, altri hanno bisogno dell'oscurità, altri dell'ossigeno, altri di determinate temperature, altri di certi substrati e così via dicendo.

In massima bisogna ritenere che la proprietà di produrre pigmento è incostante, per cui la distinzione tra batteri cromogeni e non cromogeni ha un valore relativo.

Infatti il diplococco di Fränckel, che è uno dei batteri non cromogeni, può certe volte produrre un pigmento rosso mattone, e secondo alcuni il vibrione del colera, che è tra i tipici batteri non cromogeni, certe volte produce un pigmento fosforescente (?)

Si è veduto anche che i batteri che sono tipicamente cromogeni in condizioni speciali perdono il pigmento per sempre, p. es. lo stafilococco aureo, se viene coltivato in anaerobiosi perde il suo pigmento e diviene talmente simile allo stafilococco piogeno albo che riesce impossibile poterlo differenziare.

Per ricercare il pigmento nei batteri in ogni modo si fanno colture in terreni solidi preferendo quelli su patate, tenendo il materiale a bassa temperatura, per es., a 20°; ciò che però non toglie che alcuni germi preferiscano la gelatina come mezzo di nutrizione od altri terreni. Le colture appena sviluppate si tengono alla luce diffusa alla quale la generalità dei germi sono dotati della facoltà di produrre pigmento.

2. PROCESSI DI SCOMPOSIZIONE ORGANICA. — I batteri si è ritenuto che agiscono sulle diverse sostanze organiche in due modi; direttamente e indirettamente. Agiscono direttamente quando le sostanze vengono scomposte per opera dei batteri stessi; agiscono indirettamente, quando vengono scomposte da speciali sostanze che essi eliminano. Sembra però dimostrato che ogni batterio, se scompone una sostanza organica, lo fa indirettamente, cioè per la produzione d'una sostanza solubile, chimicamente attiva, che elimina dal proprio corpo.

Le prime ricerche sul proposito sono state fatte su quel germe che decompone l'urea. È stato il Miquel che ha potuto notare che esso è come involto da una sostanza, che emana dal germe stesso ed è capace di decomporre l'urea. Però la prova migliore dell'azione indiretta dei germi sulle sostanze organiche, è stata data dai fratelli Buchner vari anni fa. Questi riuscirono a dimostrare che il lievito che serve per la fermentazione alcoolica non produce l'alcool dal glucosio direttamente, ossia per opera delle sole cellule, ma perchè queste cellule producono una sostanza che attacca il glucosio, decomponendolo in alcool e anidride carbonica.

A tal uopo fecero delle grandi colture dei blastomiceti del vino, li tritarono insieme a sabbia finissima, compressero tutto questo materiale a molte atmosfere mediante una adatta pressa e ottennero un liquido, estremamente labile al di sopra di 40°, 45°, col quale si otteneva la fermentazione alcoolica.

Il materiale che opera la scomposizione organica sarebbe rappresentato dai cosiddetti *fermenti* o *enzimi* o *diastasi*. Di questi enzimi ve ne sono diversi poichè i batteri possono possedere:

1° un enzima analogo alla ptialina che si trova nella saliva, l'*enzima diastatico*;

2° un enzima che disidrata e fluidifica le sostanze albuminoidi, l'*enzima proteolitico*, al quale, stando agli studi del Fermi, erroneamente si è attribuita la proprietà di peptonizzare l'albumina;

3° un enzima capace di invertire il saccarosio in glucosio l'*invertina*:

4° enzimi che coagulano il latte senza acidificarlo, il *caaglio* o *enzima labico*;

5° enzimi che scompongono l'amigdalina analoghi all'*emulsina*, ecc.

È da aspettarsi che col progredire degli studi biologici si trovino nei batteri tutti gli enzimi, che si conoscono e che si sogliono distinguere in diversi gruppi: cioè enzimi coagulanti e decoagulanti delle materie albuminoidi; enzimi idratanti e desidratanti delle sostanze amidacee, delle sostanze azotate, dello zucchero, dei glicosidi, ecc.: enzimi ossidanti e disossidanti; enzimi decomponenti e ricomponenti.

Per dimostrare la presenza dei diversi enzimi, occorre innestare i germi in adatti substrati di nutrizione e procedere ad alcune reazioni chimiche.

Per vedere se un germe possiede:

1° l'*enzima proteolitico*, si innesta in brodo gelatinizzato: dopo un certo tempo la gelatina viene fluidificata, ciò che si rende bene visibile se l'innesto viene fatto per infissione. In genere i germi proteolizzanti, sciolgono la gelatina al 10%; però per alcuni tale proprietà si rende manifesta usando terreni gelatinizzati in una proporzione minore.

Quando si rimanga in dubbio se la gelatina sia fluidificata, si sbatte il tubo sulla palma della mano per vedere se il menisco del cilindro di gelatina viene a spostarsi, e dal canale dell'infissione venga a staccarsi qualche gocciola di materiale fuso.

In alcuni casi dopo che è avvenuta la fluidificazione della gelatina lungo il tratto infisso, se si pone la cultura a una bassa temperatura, si torna a solidificare la parte fusa; tale fenomeno, che si può osservare nelle infissioni per es. di stafilococco aureo, non ha però importanza diagnostica.

2° l'*enzima diastatico*: si innesta il germe in pappe d'amido prive di glucosio. A tal uopo non serve la pappa d'amido di patate perchè dopo le manipolazioni della sterilizzazione, dà quasi sempre la reazione dello zucchero. È meglio usare la pappa di amido di riso al 2% che si può anche glicerinare. Sterilizzata entro tubi, si innesta col germe e dopo 6-8-15 giorni si tratta con il Fehling per vedere se si ottiene la reazione dello zucchero, sempre però controllando la stessa reazione su pappa di riso non innestata.

3° l'*enzima inversivo* dei germi rispetto al saccarosio (per gli altri zuccheri la ricerca è difficoltosa e quindi non si fa); si innesta il germe in brodo ordinario aggiunto dell'1-2% di saccarosio e sterilizzato non nell'autoclave, ma nella stufa di Koch.

Bisogna ricordare, nell'accingersi a questa ricerca, che facilmente il saccarosio nel brodo, dopo la sterilizzazione, appare già invertito e quindi prima di innestare i tubi va saggiata in vari di essi la presenza di glucosio. Si può anche sterilizzare in blocco il brodo saccarosato entro una bottiglia a tubulatura laterale, usando il dispositivo che verrà indicato per la distribuzione dei substrati filtrati allo Chamberland.

4° l'*enzima coagulante il latte*: si innesta il germe in latte serenato diviso in tubi e sterilizzato nella stufa di Koch e non nell'autoclave. Prima di innestarlo si saggia la reazione del latte, che deve essere neutra o alcalina: se non lo è, si aggiunge qualche goccia di una soluzione di carbonato sodico. Dopo un determinato tempo di dimora in termo-stato (1-10-15 giorni) si guarda se il latte è coagulato in granuli, in blocchi, in massa, e si saggia le reazioni che non deve essere acida. Se è acida, la coagulazione si deve alla produzione di acido lattico ecc, e non più ad un enzima coagulante.

I germi che coagulano possono anche possedere un *enzima dissolvente la caseina*, per cui dopo la coagulazione si può avere il dissolvimento del coagulo. Il latte perde il suo colorito



bianco e assume una tinta grigio sporca: nello stesso tempo non si vede più alcun deposito bianchiccio di corpuscoli lattei.

5° l'enzima *emulsivo*. Io si innesta in brodo di Löffler col 2% di amigdalina. Dopo 2-8 giorni se l'amigdalina è stata decomposta in acido cianidrico, aldeide benzoica, glucosio, le colture danno odore di mandorle amare.

Tra i vari enzimi di recente scoperti va ricordato quello che è capace di distruggere i microrganismi stessi (per cui le culture muoiono) l'enzima *batteriolitico*, studiato nelle culture del piociano dal Emmerich e dal Löw. Per opera di questo enzima avviene il discioglimento dei batteri, che si trasformano in particelle pallide, trasparenti, che cessano di colorarsi coi colori di anilina e poi scompaiono, ossia avviene la eromatolisi e la stromatolisi, per dirla col Gamaleïa.

Vi sono molti corpi che possono produrre eromatolisi: l'acqua distillata per es. sarebbe eromatolitica; ma sopra tutti primerebbero gli alcaloidi batterici, le nucleine, gli acidi amido-derivati. A volerla ottenere con queste sostanze occorrono anche alcune condizioni fondamentali, quali la reazione neutra del mezzo, la integrità dei batteri, il nessun trattamento col calore sopra 50°, nè con antisettici, eccezion fatta del cloroformio.

Al contrario delle sostanze eromatolitiche, poche sono le sostanze che producono la stromatolisi in vitro. Vi si arriva solo mediante le ebollizione con alcali o acidi e col vapore riscaldato a 150°: con forti soluzioni di sali neutri si riesce a ottenere il rigonfiamento della stromina dello stroma, e la sua colliquefazione fino a ridurla a una massa gelatiniforme.

Dai batteri invece è possibile ricavare un materiale enzimico che ha azione eromatolitica e stromatolitica, la *lisina batterica*.

Per ottenere le lisine il Gamaleïa ha proceduto in vari modi. Anzitutto ha potuto assodare che, trattando il bacillo del carbonchio con varie sostanze eromatolitiche, si forma una sostanza solubile in ammoniaca, precipitabile coll'acido acetico, la cromatinina, e ha supposto che dalla combinazione di questa con gli acidi amidoderivati, che sono fra gli agenti i migliori per ottenere la eromatolisi, si formi la lisina specifica o fermento batteriolitico o batteriolisina del carbonchio, detta anche *antracolisina* o *fermento antracolitico*. Applicando lo stesso trattamento ad altri batteri, avrebbe poi ottenuto altri fermenti lisinici specifici. E finalmente avrebbe indicato un metodo generale per ottenere le lisine dei singoli germi, compresa la *tubercolisina*, trattando i batteri con i fermenti peptici e precipitando il liquido con acido acetico o con la miscela eteroalcolica: il precipitato rappresenterebbe la lisina.

Anche le *sostanze tossiche* solubili secrete dai germi sarebbero secondo alcuni degli enzimi, anzi degli enzimi coagulanti ed avrebbero i caratteri delle nucleoalbumine (Gamaleïa).

Gli enzimi infatti come le tossine sono solubili in acqua e glicerina, e insolubili nell'alcool e nell'etere; tanto gli enzimi che le tossine sono sostanze labili, sicché a volte bastano i soli trattamenti usati per purificarli per ottenere sostanze senza azione.

Una proprietà comune a tutte e due sarebbe quella di produrre moltissimo lavoro in piccolissima quantità; così per es. una

parte di labfermento, il caglio, è capace di precipitare 300,000 parti di latte. Analogamente il veleno tetanico, se è molto tossico, uccide in dosi quasi imponderabili gli animali.

Finalmente dati enzimi e date tossine una volta affermate date proprietà non le modificano: la tossina tetanica, la tossina difterica, hanno sempre quelle proprietà e non altre; una non si può cambiare nell'altra, lo stesso dicasi per gli enzimi coagulanti, inversivi, ecc.

Gli enzimi e le tossine si diportano poi nello stesso modo di fronte agli agenti fisici e chimici, poichè le tossine resistono a secco ad una temperatura che si aggira sopra i 100° (così la tossina della difterite resiste fino a 100°, la tetanica fino a 130°) e gli enzimi a secco, in polvere, resistono in media fino a 130°, 150°; e al caldo umido le tossine resistono fino a 60° circa, gli enzimi fino verso 70°.

Anche riguardo agli alcali, agli acidi, agli antisettici, le tossine e gli enzimi si diportano nello stesso modo. Varia quindi solo il dipartimento biochimico, perchè le tossine inoculate negli animali li uccidono, mentre gli enzimi sono innocui; sebbene da alcuni si sia ritenuto, per aver sperimentato con sostanze non sterili, che questi ultimi pure siano tossici.

Secondo il Gamaleïa, a intendere le tossine come appartenenti al gruppo dei fermenti coagulanti e ad annoverarle, nel contempo, tra le nucleo-albumine, non evvi contraddizione. Egli scrive: « la ricerca chimica dice soltanto che per la loro origine dai nuclei batterici, per le loro generali reazioni, per la loro facile decomponibilità, per il loro contenuto in fosforo, le tossine devono essere annoverate tra le nucleo-albumine; ma la ricerca sperimentale conduce alla conclusione che esse appartengono ai fermenti coagulanti. Tra queste due soluzioni non c'è contraddizione.

« La natura chimica dei fermenti ci è in generale sconosciuta, ma una intera serie di considerazioni accenna alla loro analogia colle nucleo-albumine. I fermenti sono senza dubbio corpi complicati che contengono una base minerale come anche elementi di quella sostanza sulla quale essi agiscono, e contengono pure un gruppo centrale comme a tutti, che unisce questi diversi elementi. Ad un tale concetto sui fermenti corrispondono benissimo le sostanze comuni a tutte le cellule, le nucleo-albumine ».

3. FERMENTAZIONI. — Le fermentazioni microbiche si possono riunire in 4 gruppi:

1° *Fermentazioni per scomposizione degli idrati di carbonio* (e quindi la fermentazione alcoolica, ossalica, citrica, lattica, butirrica, ecc.) degli alcool polivalenti, degli acidi grassi e degli ossiacidi organici;

2° *Fermentazioni per ossidazione* (acetica, nitrica);

3° *Fermentazioni per riduzione* (trasformazione dello zolfo in idrogeno solforato, fermentazione dei nitrati);

4° *Fermentazioni complesse* che comprendono la fermentazione putrida o putrefazione e le industriali (fra le quali abbiamo quella della maturazione del formaggio, del tabacco, delle conterie, dell'oppio, dell'indaco ecc.).

Tra tutte queste fermentazioni, si tiene conto, per la diagnostica dei batteri, di quelle degli *idrati di carbonio* e specialmente degli zuccheri.

Queste fermentazioni sono state profondamente studiate dai chimici-biologi, però nella pratica batteriologica si utilizzano solo quelle in seguito alle quali si ottiene visibile sviluppo di gas nelle culture e acidificazione del substrato culturale.

Il gas che si forma è dell'acido carbonico in massima parte; però certamente non è il solo; è stato trovato spesso dell'idrogeno e del metano ecc.

La dimostrazione della produzione di gas da parte dei germi si fa innestandoli per infusione in gelatina od agar glucosato all'1% oppure in brodo che si versa nei saccarimetri a fermentazione (v. fig. 148) o in recipienti analoghi dove il gas si possa raccogliere nella parte alta del recipiente senza sfuggire.

Solo in qualche caso si può arguire la produzione di gas da una spugna che si forma nei brodi. In ogni caso se il liquido si è tinto precedentemente in bleu accanto alla produzione di gas si può dimostrare, dalla colorazione rossa che assume il liquido, quella di acidi che oltre al carbonico sono il lattico, nonché in tracce il fenico, l'acetico, il propionico, il butirrico.

La produzione di acido lattico si è ritenuta molto importante in alcune diagnosi differenziali, perchè si è visto che alcuni germi nelle culture glucosate o lattosate al 2-5% producono acido lattico inattivo, altri destrogiro ed altri sinistrogiro. Così per es. il vibrione del colera produrrebbe acido lattico sinistrogiro, mentre il vibrione danubico lo produrrebbe inattivo; così il *b. coli* produrrebbe acido lattico destrogiro mentre il *b. del tifo* lo produrrebbe sinistrogiro.

Però queste ricerche per cui bisogna ricorrere a determinazioni polarimetriche non sono alla mano; quindi ordinariamente ci si limita a vedere se un germe produce acido o no in substrati zuccherati, aggiungendo della tintura di tornasole, e osservando se diviene rossa con maggior o minor rapidità.

Da ultimo giova ricordare, che si è data e si dà grande importanza alla produzione di indolo nelle culture, indolo che deriverebbe dalle sostanze albuminoidi attaccate dai germi e che quindi sarebbe uno tra i tanti prodotti del ricambio dei batteri.

Per vedere se un germe produce indolo, si fanno culture in brodo senza zucchero, e si tengono per vari giorni nel termostato; quindi secondo Salkowski, si aggiunge metà del volume totale di acido solforico al 10%, che serve a mettere in libertà l'indolo dai nitrati e si riscalda senza portare all'ebollizione. Se c'è indolo appare una colorazione rosea più o meno netta dovuta alla formazione di nitroso-indolo. In alcuni casi è necessario aggiungere un po' di nitrato sodico



fig. 148.

o potassico di cui si tiene pronta una soluzione al 0,08 ° e della quale se ne aggiungono poche gocce. Si possono anche fare delle brodculture nel brodo con nitrato, il brodo di Bleisch (v. pag. 253).

I vibriani in genere producono la reazione dell'indolo (reazione rossa del colera senza l'aggiunta di nitrato di potassio perchè riducono i nitrati di cui si trovano sempre tracce nelle colture, specialmente portatevi dal peptone che s'aggiunge).

Quando l'indolo viene prodotto in minima quantità, si può, secondo Macè, aggiungere alla cultura un po' di alcool amilico e sbatter bene: il solfo-indigo azotato potassico si scioglie nell'alcool amilico il quale, lasciando in riposo la provetta, viene a galla ove appare come un anello rosso o rosso sul liquido.

Riunendo insieme i germi patogeni che ordinariamente producono indolo e quelli che non lo producono si può stabilire la seguente tabella (Kitasato):

TAB. 14.

Germi che darebbero il più delle volte la reazione dell'indolo	Germi che non danno la reazione dell'indolo
Stafilococchi piogeni (?)	Gonococco
B. coli	Streptococco
B. della difterite (?)	Diplococco
B. tetano	B. del tifo
B. carbonchio sintomatico	B. dell'influenza
B. edema maligno	B. morva
Vibrione del colera	B. tubercolosi
	B. del carbonchio ematico

## CAP. III.

### PROPRIETÀ DEI BATTERI DI FRONTE AGLI AGENTI FISICI E CHIMICI.

Si sogliono distinguere due sorta di morte di batteri; morte naturale e morte violenta.

I batteri soggiacciono alla *morte naturale* specialmente in seguito alla concorrenza vitale: e per l'intervento di un altro fattore, rappresentato dall'ensima batteriolitico, secreto dai vari germi, che ha la proprietà di distruggere, di dissolvere i microrganismi, pur essendoci grande ricchezza di substrato nutritivo.

La *morte violenta* dei batteri è in genere provocata da due grandi gruppi di agenti: fisici e chimici.

#### A. — Agenti fisici.

Gli agenti fisici che sono capaci di uccidere o togliere i germi inquinanti un dato materiale sono: la luce, l'elettricità, la pres-

sione atmosferica, il disseccamento, lo scuotimento, la temperatura, la filtrazione attraverso materiali finamente porosi.

1. LA LUCE è un potente sterilizzante dei germi e agisce specialmente quando li colpisce nella fase di vita vegetativa: allorchè sono sporificati impiega maggior tempo; p. es. mentre il bacillo del carbonchio può resistere alla luce solare diretta per circa 4 ore, la spora invece vi resiste anche 6 giorni.

In ogni caso il modo di agire della luce solare sui batteri consiste in una forte ossidazione del protoplasma, per cui questo muore.

La luce elettrica è molto meno attiva della luce solare; i raggi bleu, violetti ed ultravioletti sono i più attivi, i rossi ed i gialli i meno. La luce elettrica è attiva di per sè senza l'azione del calore.

2. L'ELETTRICITÀ è un discreto sterilizzante dei germi, quando però venga usata a potenziale molto alto.

Essa esercita un'azione diretta sia mediante l'innalzamento di temperatura, sia modificando il substrato, così per es. una corrente di 5 M.A per 5' uccide i b. del carbonchio in brodo forse per l'azione di acidi e dell' $O^2$  nascente che si produce (Apostoli e Laquerrierre). Spore del carbonchio aderenti a due fili di platino coperti di agar e funzionanti da elettrodi ed immersi nel 0,6 di *Na Cl* morirono. Il b. *pyocianus* però pure rimanendo in un solenoide di 800 mila oscillazioni al secondo.

La PRESSIONE ATMOSFERICA è attiva solo sui germi non sporigeni: se lo sono non bastano neppure forti pressioni per ucciderli. Così mentre la spora del carbonchio non muore, sottoposta alla pressione di 600 atmosfere, ma solo si può attenuare, si può ottenere la morte del bacillo a 12 atmosfere (temp. 38°-39°) secondo Chauveau.

3. Il DISSECCAMENTO agisce sui batteri spesso insieme alla luce solare; anche da solo può però in qualche caso essere sufficiente ad uccidere i germi; il Flügge infatti ha potuto dimostrare che piccole particelle di sputo che vengono emesse dalla bocca d'individui malati, specialmente tisici, negli ambienti dove non havvi sole, ma sufficientemente secchi, vengono ugualmente sterilizzate alla condizione che esse sieno finissimamente suddivise.

I germi patogeni essiccati avrebbero la resistenza esposta nel quadro seguente:

TAB. 15.

Germi	Resistenza
Genococco	Qualche ora
Vibrione del colera	Da qualche ora a 2 giorni
B. peste	Da 4 a 8 giorni
B. difterico	Da 20 a 30 giorni
Streptococco	Da 44 a 36 giorni
Diplococco	Da 49 a 53 giorni
Stafilococco	Da 53 a 400 giorni
B. del tifo	Sino a 70 giorni
B. tubercolosi	Da 2 a 3 mesi

4. Lo scuotimento se continuato ed intenso mediante adatti apparecchi arresta lo sviluppo ed uccide (Horvalh-Pollh). Le diverse specie si comportano diversamente: sensibili sono lo str. citreo ed il b. megaterio; resistenti invece sono il b. del tifo ed il b. fluorescens non liquefaciens (Meltzer).

5. LA TEMPERATURA è il più importante agente sterilizzante. Però bisogna ricordare che in dati gradi, lungi dall'essere sfavorevole, è favorevole.

La *temperatura favorevole* dei batteri è quella che permette il loro sviluppo e si distingue in temperatura minima, ottima e massima di sviluppo, come si può vedere nel seguente quadro in riguardo ai germi patogeni per l'uomo.

In genere bisogna ritenere che la temperatura ottima di sviluppo per i microrganismi parassiti ossia per i paratrofi sia quella dell'organismo umano, cioè 37°; per i prototrofi, cioè quei germi i quali si contentano di poco, la temperatura dell'ambiente in cui vivono, la quale eccezionalmente per alcuni raggiunge 0°, e per altri 60°-65°, ecc.

Le *temperature sfavorevoli* ai batteri sono le basse e le alte: però mentre le temperature alte uccidono i germi, le basse non fanno altro che paralizzarne lo sviluppo.

Le *alte temperature* sono quelle con le quali si procede alla sterilizzazione degli oggetti contenenti batteri. Esse si distinguono in alte discontinue o intorno ai 60°-80° ed in alte continue o intorno ai 100°.

In genere i batteri non resistono a lungo nella loro fase vegetativa, al di là dei 60°-70° C. per cui si possono sottomettere per alcune ore a questa temperatura colla certezza di ucciderli tutti.

Su questo principio è fondato il così detto processo di *sterilizzazione frazionata*.

Con questo procedimento però non si riescono ad uccidere le spore, le quali quindi nei giorni successivi si sviluppano.

Per uccidere anche queste, cioè dopo che il materiale è rimasto per 2-3 ore a 55° lo si riporta verso 30°-37° e ve lo si tiene per 12-24 ore, poi si torna a riportarlo a 55° e così via per 5-6-8 giorni badando di evitare di raggiungere, quando i liquidi contengono sostanze albuminoidi, durante la sterilizzazione, la temperatura di 58° perchè le albumine si coagulano.

In tal guisa le spore dell'oggi saranno i bacilli che il domani verranno uccisi.

Questo procedimento prende nome di *sterilizzazione alla Tyndall*, la quale in batteriologia si usa per il siero del sangue, l'albumine d'uovo, ecc., e in genere per tutti quei substrati che coagulano a 100° e divengono opachi.

Le temperature alte intorno al 100° uccidono tutti i batteri comprese le spore, ma però si comportano alquanto diversamente a seconda che si tratta di temperature al calor secco o al calor umido. Il calore umido è assai più potente a parità di condizioni del calore secco, poichè come si comprende facilmente insieme alla temperatura interviene un processo d'idratazione, che è il primo fattore che guida alla scomposizione delle sostanze organiche.

Infatti considerando per es. la temperatura che ci vuole per uccidere in 10 minuti le forme vegetative dei batteri patogeni si trova che questa si aggira intorno ai 50°-60°, mentre per ucciderli nello stesso tempo mediante il calore secco bisogna raggiungere temperature molto più elevate che sono più vicine ai 100° e in ogni caso mai inferiori a 70°.

Ciò risulta dalla seguente tabella:

TAB. 16.

Germi patogeni	Temperatura ad umido	Temperatura a secco
Stafilococco piogeno . . . . .	56-58	Alle stesse temperature sono vivi anche dopo 10 minuti (CASAGRANO).
Streptococco piogeno . . . . .	52-54	
Diplococco della polmonite. . . . .	56	
Gonococco . . . . .	55-60	
B. del colon . . . . .	58-60	
B. del tifo . . . . .	56-60	
B. dell'influenza . . . . .	60	
B. della morva . . . . .	55	
B. della peste . . . . .	70	
B. della dissenteria . . . . .	58-60	
B. della difterite . . . . .	60 (?)	
B. della tubercolosi . . . . .	70	
Actinomices . . . . .	70	
B. del carbonchio ematico . . . . .	54	
B. del carbonchio sintomatico . . . . .	60	
B. del tetano . . . . .	60	
B. dell'edema maligno . . . . .	60	
Vibrione del colera . . . . .	52-60	

Quando poi si tratti di germi sporificati, si trova che la temperatura di 100° non è mai sufficiente a secco per potere uccidere le spore in 1 ora; mentre quella ad umido, protratta per lo stesso tempo, uccide sicuramente tutte le spore del carbonchio ematico e dell'edema maligno, del carbonchio automatico e del tetano.

In genere si ritiene che le spore del carbonchio ematico a 100° ad umido non resistano più di 1-5 minuti; però se ne sono trovate alcune che resistono al di là di 45 minuti (Montella); ma, nessuno ha dimostrato che ve ne siano di quelle che resistono al di là dei 60 minuti. Invece è dimostrato che per uccidere le spore nello stesso germe a 140° a secco necessitano almeno 3 ore.

Del resto, anche le spore dei batteri banali del terreno, che sono straordinariamente resistenti, sopportano molto di più le alte temperature secche che le alte umide: basterà dire che mentre per ucciderle in 1 minuto a temperature umide necessitano 140°, per ucciderle a temperature secche nello stesso tempo, bisogna superare i 200°, come risulta dalla seguente tabella:

TAB. 17.

Resistenza delle spore dei bacilli del terreno alle alte temperature		
temperatura	ad umido	a secco
100°	16 ore	—
105°-110°	2-4 ore	—
115°	1½-4 ore	—
125°-130°	più di 5 minuti	—
135°	4-5 minuti	—
140°	1 minuto	—
150°	—	più di 2 ore
158°	—	2 ore
180°	—	1 ora
200°	—	5 minuti

La *sterilizzazione al calore secco* si fa direttamente alla fiamma o indirettamente in aria riscaldata.

Si sterilizzano direttamente al calore della fiamma: arroventandoli (ago di platino, piccole candele da filtrazione); passandoli sulla fiamma sino a scaldarli fortemente (vetri, pipette, ecc.).

Per sterilizzare l'ago di platino si procede nella maniera seguente: da prima si pone sulla fiamma verticalmente finché tutto sia arroventato, poi si passa la bacchetta con movimento di rotazione e di andirivieni orizzontalmente sulla fiamma stessa, in fine si torna ad arroventare l'ago, disponendolo verticalmente.

Si sterilizzano nell'aria secca riscaldata a 150°-180° i vetri ben asciutti, l'ovatta, la carta, (quest'ultima in appositi recipienti).

Gli apparecchi che servono allo scopo sono le *stufe del Pasteur e quella del Koch*.

La *STUFA DI PASTEUR* è rappresentata da un cilindro di rame saldato a fuoco, a doppia parete; essa in basso porta da un lato un tubo ripiegato a squadra (tubo di ventilazione); il fondo della parete esterna è per certo tratto aperto, là dove corrisponde la sorgente calorifica.



La STUFA DI KOCH ha la forma di una cassetta a sezione rettangolare a doppia parete: sul fondo esterno forato poggia un disco di rame o amianto, mentre la parte superiore esterna è fornita verso la metà di una piccola griglia che serve a lasciar sfuggire i prodotti della combustione.

Il riscaldamento si ottiene per mezzo di una fiamma Bunsen, colla quale si arriva a 180° C. se è a tre becchi, a 150° C. se ad uno solo. Il tempo per ottenere la sterilizzazione degli oggetti varia di 1/2-1 ora secondo che la temperatura è di 180° o di 150° C.

Gli oggetti vanno messi nel centro della camera con il tappo rivolto in alto se chiusi con ovatta e possibilmente non appoggiati alle pareti; la fiamma va accesa subito appena aperto il rubinetto del gas, perchè se questo riempie l'intercapedine può aversi uno scoppio coll'avvicinare il cerino acceso.

La sterilizzazione ad umido si fa nelle stufe dove si svolge del vapore d'acqua.

La PENTOLA DI KOCH è la più comune: essa è rappresentata da una caldaia a forma conica, alla quale è saldato un cilindro con un coperchio che ha un foro per il termometro.

Il materiale da render sterile, messo in un cestino, si depone sopra un reticolato che divide la pentola dal cilindro.

In questo apparecchio si sterilizzano i terreni di nutrizione, e le sostanze che non possono venir sottoposte a sterilizzazione a secco come il legno e la gomma.

La durata dell'azione sterilizzante varia a seconda del materiale, così per la gelatina non deve essere più di 1/2 ora, per l'agar non meno di 3/4 d'ora, e per le patate e le carote non meno di 1 ora, affinché periscano anche le spore, inoltre l'operazione va ripetuta per 2-3 volte nei giorni successivi.

L'AUTOCLAVE serve per sterilizzare gli oggetti ad umido col vapore soprariscaldato.

Questo consiste in una spessa caldaia metallica, cilindrica, chiusa ermeticamente da un pesante coperchio di bronzo provvisto di tre fori: ad uno di questi è avvitato un rubinetto per l'uscita dell'aria e del vapore; al secondo è fissata una valvola di sicurezza ed al terzo un manometro per indicare la pressione del vapore nell'interno. Un cesto cilindrico serve per contenere gli oggetti da sterilizzare ed il sostegno sul quale è situata la caldaia è provvisto di una doppia corona di becchi a gas.

Per usarlo si versa l'acqua nella caldaia sino quasi a lambire il fondo del paniere; s'introduce il medesimo nella caldaia cogli oggetti da sterilizzare; si chiude avvitando successivamente le viti opposte fra loro; si apre il rubinetto d'uscita del vapore; si accende la corona esterna delle fiamme a gas; si attende che il vapore uscendo con forza dal rubinetto, abbia scacciato tutta l'aria dall'interno dell'autoclave e poscia si chiude il rubinetto. Il manometro salirà allora rapidamente e con questo anche il termometro se c'è. Arrivata la pressione al grado voluto, si cerca di mantenerla, regolando le fiamme con lo spegnere la corona esterna e accendendo l'interna. Da questo momento comincia il periodo utile della sterilizzazione. Dopo 20'-30', secondo i casi, si spengono le fiamme, si aspetta che l'ago nel manometro scenda a 0° e poi si fa uscire lentamente il vapore dal rubinetto svitando il coperchio appena tutto il vapore è uscito.

Gli errori nei quali si può incorrere nell'uso dell'autoclave, sono principalmente tre: quello dell'espulsione incompleta dell'aria dall'interno dell'autoclave, non raggiungendo così la temperatura voluta in tutti i punti del medesimo; quello di far uscire con troppa violenza il vapore, terminata la sterilizzazione, causando una tumultuosa ebollizione dei liquidi e l'espulsione dei tappi dai recipienti; quello di far entrare improvvisamente l'aria (aprendo il rubinetto) quando il vapore, essendosi già condensato, la pressione nell'interno è negativa, incorrendo nell'incidente opposto, cioè che i tappi verrebbero violentemente ficcati nell'interno dei recipienti. Si può anche far funzionare l'autoclave, da semplice stufa di Koch, lasciando aperto il rubinetto d'uscita del vapore.

Quando si sterilizzano nell'autoclave i terreni nutritivi, è inutile portare la pressione al di là di 1/2 atmosfera (circa 115°), e la durata di azione oltre 1/2 ora: portare i substrati a 130° come consigliano molti autori, significa alterarli e renderli meno adatti allo sviluppo dei germi.

Per la gelatina o per substrati contenenti zuccheri non invertiti o amido, meglio è non servirsi di tali apparecchi.

Usando l'autoclave basterebbe in genere una sola sterilizzazione, ma è meglio mettere il giorno seguente il materiale nella stufa di Koch per 1/2-1 ora.

Compendiando i vari procedimenti che sono adottati nella tecnica batteriologica, si può stabilire la seguente tabella per la

### Sterilizzazione mediante il calore.

TAB. 18.

ad alte temperature	calore secco	alla fiamma diretta	sino al color rosso	{ aghi di platino candele di porcellana (eccezionalmente perchè di- vengono eccessivamente porose)		
			quasi sino al color rosso		{ bacchette di vetro pipette di vetro pinzette, strumenti metallici che si debbano ado- perare li per li	
		nella stufa a secco	sino a 150° per 1 ora	{ ovatta, carta bibula, pipette avvolte in ovatta o carta bibula, capsule di Petri avvolte in carta bibula, tubi da saggio o palloni chiusi con ovatta, filtri di zucchero (v. esame dell'aria)		
			a 180°-200° per 1 ora		{ oggetti di vetro non avvolti da ovatta e da carta bibula, oggetti metallici senza il manico di legno, oggetti di porcellana, di terra cotta, di gesso. ecc.	
	calore umido	vapore acqueo	acqua bollente per 1/2-1 ora	{ strumenti per operazioni e per autopsie siringhe di vetro o con montatura metallica a stantuffo di gomma o amianto		
			ad alte pressioni		a pressione ordinaria	circa a 100° per 1/2 ora ripetendo l'operazione per 3 giorni
		nelle stufe di Koch, di Bienenberg, ecc.				
		ad alte pressioni		a 1/2 atm. (115°-120°) per 15-20 minuti	circa 100° per 1 ora e più ripetendo l'ope- razione 2-3 volte in giorni successivi	{ brodo ordinario agar-agar patate, carote, ecc. candele porose
					negli autoclavi	
		ad alte pressioni	a 1 atm. 130° per 10-15 minuti		{ brodo ordinario agar strumenti metallici con o senza il manico di legno- pipette, pinzette con ovatta o carta bibula candele porose	
a bassere temperature	a 50°-60° (a bagnomaria per 4 ore ri- petendo l'operazione per 7-8 giorni ponendo fra un intervallo e l'altro il materiale in termostato).		{ siero di sangue albuminati alcalini liquidi pleurici, ascitici terreni di cultura aggiunti di sostanze facilmente alterabili.			

Per studiare l'azione dei principali agenti fisici sterilizzanti occorre seguire una particolare tecnica.

*Per studiare l'azione della luce solare o del disseccamento*, si inquinano tele, fili di seta, bacchettine metalliche o meglio di vetro, ecc., si essicano e si espongono all'azione della luce diretta, diffusa e allo oscuro, avendo cura nel caso che si voglia eliminare l'azione della temperatura di porli entro recipienti di vetro a loro volta collocati in una corrente d'acqua a temperatura costante di 10°-12°. Dopo un certo tempo si innestano nei terreni di cultura oppure si inoculano negli animali.

*Per studiare l'azione della temperatura e specialmente delle temperature alte umide (delle alte secche credo inutile parlare)*, bisogna servirsi di appositi dispositivi.

Generalmente nella pratica di laboratorio, gli studiosi si servono della comune pentola di Koch; e stabiliscono la resistenza delle spore coll'espore i fili di seta, impregnati di spore, al vapore fluente di questa pentola, seminandoli dopo in tubi di brodo od agar.

Questo procedimento però non è esatto, perchè il vapore sprigionato dalla pentola del Koch non raggiunge mai la temperatura di 100°. Allo stesso inconveniente va soggetta la pentola di Budenberg.

Altri si servono pure del vapore fluente che sviluppa da un pallone a collo largo: ma anche con questo semplicissimo apparecchio non si ottiene mai la temperatura del vapore a 100°, ammesso pure che si circondi il collo del pallone con un altro recipiente contenente acqua in ebollizione.

Alcuni sono ricorsi anche ad apparecchi speciali più o meno complicati come a quello di Miquel e del Lattraye, che consiste in uno autoclave doppio: in quello interno si pone il materiale sporigeno, nell'esterno l'acqua per svolgere il vapore. La temperatura viene segnata da termometri di cui uno penetra nell'autoclave interno; ma questo apparecchio è tutt'altro che alla portata di tutti, ed in ogni caso è specialmente adatto per studiare l'azione del vapore a temperature superiori a 100°.

Un apparecchio molto più semplice e più pratico, si mostra invece quello del Simonetta, consistente in una comune boccia Erlenmeyer rivestita di amianto, al cui fondo si pongono dei pezzetti di vetro: attraverso il collo si fa passare il termometro ed il materiale contenente spore che bisogna avvicinare molto alla superficie del liquido in ebollizione. Esso però non può servire affatto per parecchie ore.

A questo scopo si può adoperare come sorgente di calore a 100° quello che si svolge da un piccolo autoclave: facendo pervenire il getto di vapore in un recipiente in cui la dispersione dello stesso vapore viene evitata mediante una copertura ana-



fig. 149.

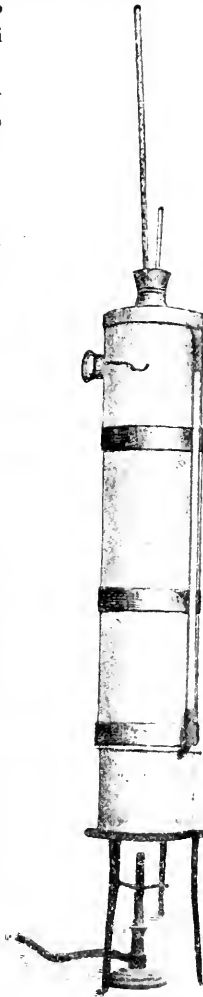


fig. 150.

loga a quella della stufa di Budenberg (fig. 149), regolando opportunamente la pressione e l'uscita del vapore, oppure, come io preferisco, un grande cilindro metallico rivestito di amianto con un

toro nella parte superiore in cui si pone un tappo attraversato da un termometro e da un tubetto di vetro a lume stretto. In alto lateralmente il cilindro porta un foro in cui si può introdurre un tappo di gomma portante una asticciola piegata ad uncino a cui si sospendono i fili, le bacchette inquinate (fig. 150).

Il materiale si prepara da patine su agar o su patate, si emulsiona in acqua sterile, si filtra attraverso carta e nel filtrato si immergono le bacchette di vetro o i fili di seta sterili che si pongono a essiccare in un essiccatore e poi si sospendono nell'interno dell'apparecchio sterilizzante tenendovi il tempo necessario per l'esperienza, dopo di che si innestano in brodo o in gelatina o negli animali, a seconda dei germi di cui si tratta.

6. LA FILTRAZIONE veramente non uccide i germi, li separa solo dai materiali in cui si trovano. Essa si fa mediante candele porose di porcellana di Chamberland, o di terra di infusorii di Berkefeld.

Qualunque sia la forma data alla candela, perchè il materiale filtri nel più breve tempo possibile e la candela possa venire per il maggior tempo utilizzata, è necessario che il liquido filtri dall'esterno all'interno.

Se non si posseggono filtri adatti allo scopo o si è costretti a filtrare dall'interno all'esterno, la miglior candela è quella del Maassen corta che si applica ai filtri Reichel nei quali ai cappuccetti di gomma che trattengono i bordi della candela al bordo del recipiente di vetro si possono sostituire delle morse metalliche, evitando così l'inconveniente dei cappuccetti che facilmente si rompono o non tengono bene (fig. 151).

La filtrazione dall'interno all'esterno porta seco fra gli altri inconvenienti, quello di rendere inamovibile il filtro; ecco perchè in molti laboratori si dà la preferenza alle candele Chamberland con annessa tubulatura di gomma la quale si adatta ad un recipiente con tubulatura laterale.

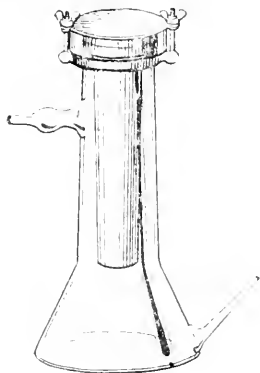


fig. 151.



fig. 152.

La candela si immerge in un recipiente cilindrico nel quale si versa il liquido che viene aspirato nella bottiglia di vetro. Il tubo di gomma deve essere lungo per potere sollevare ogni tanto la candela e spazzolarla entro un recipiente contenente acqua sterilizzata. È però preferibile invece di un recipiente cilindrico di vetro qualsivoglia, servirsi di recipienti svasati superiormente in corrispondenza del collare della candela e forniti d'una tubulatura laterale con imbuto in *a* livello dell'orifizio del cilindro per il quale si versa il liquido man mano che viene aspirato (*v.* fig. 152). È bene anche innestare al beccuccio di porcellana delle candele un tubo di vetro

lungo 10 cmc. a mezzo di un collare di gomma, al quale tubo (v. fig. 152) poi si attacca quello di caoutchout del recipiente ove si fa l'aspirazione: questo tubo di vetro serve a prendere la candela senza insudiciarsi le mani per spazzolarla e nel contempo finita la filtrazione per rivoltarla o inclinarla senza doverla afferrare con pinze od altro, perchè tutto il liquido che in essa si contiene, pervenga nel recipiente e non vada, come si fa generalmente, perduto.

Qualora poi si vogliano filtrare piccolissime quantità di liquido, si innesta direttamente al tubo di gomma una delle piccole candele Kitasato e si fa uso di un tubo corto.

All'inconveniente dell'inquinamento del liquido filtrato proveniente da filtri sterili e da recipienti sterili, inconveniente dovuto ai travasi necessari per distribuirlo, si può ovviare raccogliendo parzialmente in vari recipienti il materiale filtrato servendosi di un dispositivo applicabile all'apparecchio di filtrazione che permetta di misurare la quantità del medesimo.

A tal uopo il liquido sterile si raccoglie in una bottiglia a tubulatura laterale a cui si applica la pompa del Centanni (fig. 153) nel cui tubo è intercalato un tubo di vetro (7) con

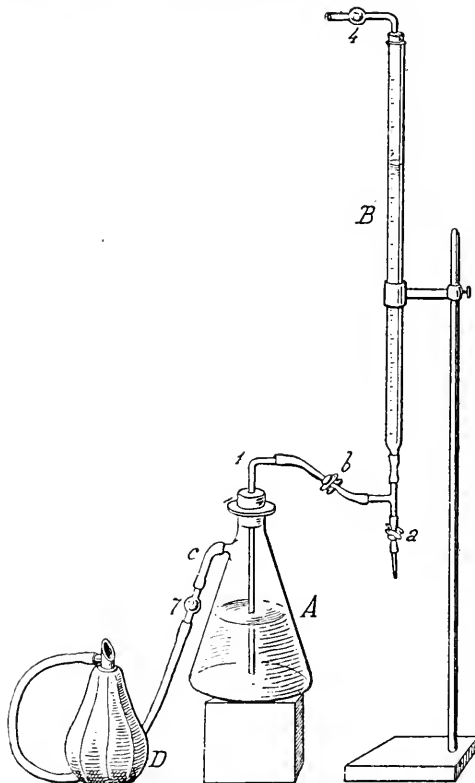


fig. 153.

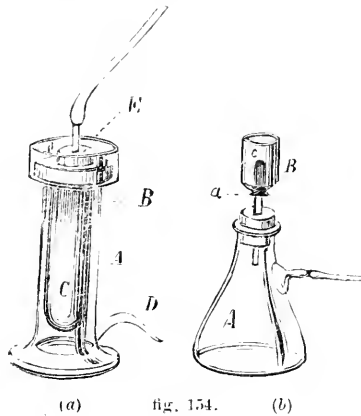
un rigonfiamento pieno di cotone, mentre nel collo della bottiglia si introduce un tappo di gomma ad un solo foro attraverso il quale passa un tubo di vetro piegato ad angolo che nella parte interna pesca fino in fondo alla bottiglia. Questo tubo (1) si unisce per mezzo di un tubo di gomma stringibile da una pinza col tubo a -7 della burretta.

Per far funzionare l'apparecchio si svita la pinzetta *b* suaccennata, si preme sulla pera di gomma *D*, e allora il liquido sale per il tubo che pesca nella bottiglia ed entra nella buretta graduata *B*. Si arresta l'entrata del liquido stringendo la pinzetta *b*.

Per fare l'aspirazione ci si può servire di pompe ad acqua o di altri apparecchi come di quello Raplin per diacciare i liquidi. Alcune volte però se ne può fare anche a meno, o praticarla a mano con una pera di gomma e ciò quando si debbano filtrare attraverso piccole candele dei liquidi non contenenti germi dimostrabili nè coll'esame microscopico nè con quello culturale (i così detti germi invisibili).

Allora si circonda la candela di un manicotto metallico, il collo della candela si fa passare per un foro praticato nel fondo del manicotto, a cui si costringe a stare aderente stringendolo contro con una vite e con l'intermezzo di un anello di cautchout. Il collo libero della candela si introduce nel collo di una bottiglia attraverso un tappo di gomma forato. Il liquido da filtrare si versa tra la parete interna del cilindro e la candela (fig. 154-*a*).

Oppure si versa dentro ad una candela che si chiude con un tappo attraversato da un tubo in comunicazione con una pera di gomma: il liquido che passa attraverso la candela perviene in un recipiente entro cui è sospesa la candela avvolta con ovatta nella sua parte alta (fig. 154-*b*).



Usando le candele Chamberland è bene sapere che quelle che lasciano passare i batteri visibili specialmente mobili sono segnate con la marca  $F_4$ - $F_{10}$ : Man mano che da  $F_4$  si procede ad  $F_{10}$  diminuisce il numero e la qualità dei germi che passano, finchè  $F_{10}$  non ne lascia passare alcuno dei visibili. Sonvi poi candele segnate con la marca *B* che non lascerebbero passare neppure questi.

Usando le candele Berkefeld è necessario provarle volta per volta, non essendo costante la loro porosità, sebbene si possa in generale affermare che non lasciano passare alcuno dei germi visibili purchè si faccia la filtrazione rapidamente, e preferibilmente senza pressione, od aspirazione ed abbia una durata relativamente breve.

Le candele si provano molto semplicemente: si immergono sino alla estremità in una provetta piena di acqua; si adatta al collo delle candele una

pera di gomma e si comprime l'aria nell'interno di esse; se sfuggono dalle candele delle bolle d'aria, sono da scartare perchè o fessurate o a pori molto grandi, o l'attacco col collo è malfatto.

Quanto alla sterilizzazione delle candele, essa non va mai fatta, se si vuol essere sicuri della loro bontà, nella stufa a secco.

Si sterilizzano bene nell'autoclave per 1 ora (a 115°-120°). Quando poi sono state molte volte adoperate si rigenerano, come si dice, ossia si bruciano sino al calor rosso alla fiamma. È meglio però in questi rigenerarle immergendole in permanganato potassico 5 % o bisolfato di soda  $\frac{1}{2}$ ° o acido acetico 10 %. Vi si lasciano immerse 24 ore, poi si lavano con acqua distillata per vari giorni e si sterilizzano.

### B. — Agenti chimici.

Gli agenti chimici, causa di morte dei batteri, sono stati distinti in tre grandi gruppi: sostanze chimiche asettiche, battericide, sporicide.

Per sostanze asettiche s'intendono quelle sostanze che impediscono semplicemente lo sviluppo dei germi asporigeni, per battericide quelle che li uccidono nella fase vegetativa, per sporicide quelle che uccidono anche le spore dei germi.

Fra le *sostanze asettiche* tiene, secondo gli studi del Behring, il 1° posto il verde malachite che impedisce lo sviluppo del b. del carbonchio aggiunto nella proporzione di 1 a 40000 di cultura.

Fra le *sostanze battericide* studiate in rapporto al loro modo di agire sul bacillo della tubercolosi occupa il primo posto l'acido fenico al 5 % che uccide il bacillo della tubercolosi in 30 secondi.

Fra le *sostanze sporicide*, il primo posto, secondo Paul e Krönig, è occupato dal bicloruro mercurio che all' 1,7 % uccide le spore del carbonchio in 12'-14'.

Ciò risulta dalla seguente tabella dove sono messe in paragone l'azione dei disinfettanti chimici solubili.

TAB. 19.

Sostanze asettiche (Behring)	Sostanze battericide	Sostanze sporicide (Paul e Krönig)
Impediscono lo sviluppo del b. del carbonchio le seguenti sostanze aggiunte a siero di vitello, contenente il bacillo, nelle proporzioni seguenti (in gr. o cme.):	Per uccidere il bacillo tubercolare occorrono per	Per uccidere le spore di carbonchio a 18° occorrono per
Verde di malaclite . . . . . 4 : 40.000	l'acido fenico 5 % . . . . . 30"	il sublimato 4,7 % . . . . . 42'-14'
Nitrato d'argento . . . . . 4 : 30.000	" 4 % . . . . . 4'	" 0,2 % . . . . . 60'-80"
Sublimato corrosivo . . . . . 4 : 40.600	l'alcool assoluto . . . . . 5'	permanganato di potassio 4,25 % 45'-60'
Brodo e formaldeide . . . . . 4 : 10.000	lo iodofornio 1 % . . . . . 5'	" 3-95 % . 40"
Potassa . . . . . 4 : 4.500	l'etere . . . . . 40'	idem + acido cloridrico . . . . . 40"
Cloruro di chinina . . . . . 4 : 500	il timolo 0,3 % . . . . . 3h	la formalina . . . . . 420"
Acido fenico . . . . . 4 : 500	l'acido salicilico 0,25 % . . . . . 6h	l'acido fenico 5 % . . . . . 21h
Timol . . . . . 4 : 250		la potassa 56 % . . . . . 45h
Alcool . . . . . 4 : 45		
Cloruro di scodio . . . . . 4 : 45		



Per studiare l'azione di un disinfettante chimico sui batteri bisogna tener presente alcune condizioni speciali, riguardo al metodo di studio. Non si può infatti saggiare l'azione disinfettante di un liquido su di un germe, agguingendo questo liquido alla coltura, perchè in questa guisa se ne saggia solo il potere asettico.

Occorre far agire la soluzione disinfettante sul germe, e poi tolta questa, innestare il germe in adatto terreno di coltura, dopo averlo privato possibilmente di qualunque traccia di antisettico.

All'uopo si introducono dei fili di seta oppure delle bacchette di vetro ben pulite nell'emulsione dei bacilli in acqua distillata, e tolte cariche di germi, si mettono a seccare in un essiccatore. Appena secche s'immergono nella soluzione disinfettante, vi si tengono un dato tempo, poi si levano e s'immergono in una soluzione preparata precedentemente che abbia la proprietà di trasformare in un materiale innocuo la sostanza che è servita a uccidere i germi. Ciò fatto si lavano le bacchette ed i fili in acqua distillata e poi si mettono nel terreno di coltura.

Nel fare queste ricerche bisogna poi ricordare che non è la stessa cosa servirsi di un materiale piuttosto che di un altro per sciogliere la sostanza sterilizzante, poichè si possono avere dei risultati assolutamente diversi. Si è visto infatti per es. che se si aggiunge il sublimato corrosivo a una emulsione di bacilli nell'acqua, si trova che uccide il bacillo del carbonchio nella proporzione dai 1:50000; se lo si aggiunge invece ad un'emulsione di bacilli in brodo, la proporzione discende a 1:40000 e se ad un'emulsione in siero, scende fino a 1:2000.

In quanto al meccanismo d'azione dei vari agenti chimici capaci di uccidere i batteri, le opinioni non sono ancora ben assodate: secondo il Pflüger e il Löw, le sostanze battericide e sporicide sono quelle che contraggono combinazioni con i gruppi amidici e aldeidici delle sostanze albuminoidee viventi, appunto perchè si tratterebbe di corpi sostituendi.

Secondo la teoria del chimico olandese van 't Hoff le varie sostanze disinfettanti e tossiche nelle loro soluzioni vanno soggette, come molte altre sostanze, ad una parziale *dissociazione elettrolitica*, per effetto della quale un certo numero di molecole si scinde in due elementi o gruppi di elementi, che acquistano proprietà elettriche antagonistiche e prendono allora il nome di *joni*. Per es. in una soluzione di sublimato insieme colle molecole  $Hg Cl_2$  esistono gli elementi liberi o *joni*  $Hg$  (elettropositivi) e  $Cl$  (elettronegativi). Il potere antisettico delle sostanze dipenderebbe precisamente dalla quantità degli elementi liberi, o, che val lo stesso, dal grado di dissociazione elettrolitica.

Il grado di dissociazione poi varia per diverse condizioni:

1° aumenta colla temperatura: vanno quindi usate a prevalenza soluzioni deboli, ma calde;

2° varia colla natura del solvente: per il sublimato, per l'acido fenico, ecc., aumenta in presenza d'acqua e diminuisce in assenza della medesima, quindi in alcool, in grassi, ecc.;

3° varia per la presenza di altre sostanze: così il grado di dissociazione elettrolitica del sublimato aumenta di più in presenza

di *NaCl* che di *HCl*, mentre quello del permanganato potassico cresce specialmente in presenza di *HCl*. La proporzione della sostanza favoreggiante non è indifferente; così tornando al sublimato, si ha che l'*NaCl* aumenta molto di più l'energia di una soluzione di sublimato (1,7 %) nella proporzione dell'1 % che in quella del 10 %. Pare che anche l'aggiunta di acido tartarico al sublimato abbia la stessa azione.

Nella pratica batteriologica la sterilizzazione con sostanze chimiche si fa:

1° *mediante il sublimato corrosivo*: I più adoperano la miscela di Laplace (acqua gr. 1000: acido cloridrico gr. 5; cloruro mercurico in sostanza gr. 1): alcuni però adoperano la soluzione dal 3 al 5 % di cloruro mercurico. Si usa per disinfettare campane di vetro, camere di Tyndall, piani di vetro, carte bibule che servono per le camere umide, le mani e le parti molli degli animali da inoculare o da sezionare.

Se dopo la disinfezione le parti debbono rimanere asciutte, si lavano con alcool o con alcool ed etere a parti uguali, aiutandosi con batuffoli di cotone idrofilo, sterilizzati a secco.

Le spore del b. del carbonchio muoiono in un tempo variabile da 3' a 30' nel sublimato 1 % e acido tartarico 5 %; lo stafilococco in 3' a 10': se non si aggiunge acido, le spore muoiono in 10'-40': lo stafilococco in 3'-15':

2° *mediante l'alcool o l'etere a parti uguali* per sterilizzare le siringhe, gli oggetti di guttaperca, e i recipienti che si romperebbero nelle stufe. Quando è possibile, dopo avere lavato gli oggetti, si dà fuoco al residuo di alcool rimasto: per es. per sterilizzare i mortai, gli strumenti metallici, ecc. Va ricordato che agisce meglio nella concentrazione del 50-70 % che in quella inferiore al 50 % o superiore al 70 % (Epstein, Minervini) come si rileva dalla seguente tabella riguardo per es., al b. coli e allo staf. p. aureo

TAB. 20.

Germi	Alcool al			
	25 %	50 %	70 %	80-99 %
	morte dopo	morte dopo	morte dopo	vivono dopo
B. coli . . . . .	24 h	4 h	4 h	3 giorni
Staf. piog. au. . . . .	42-24 h	10 minuti	40 minuti	24 ore

e che in ogni caso non ha alcuna azione sulle forme sporificate (le spore del b. del carbonchio sono ancora vive dopo 58-60 giorni e capaci (inoculate) di uccidere le cavie (Tusini):

3° *mediante l'acido fenico* non si sterilizzano oggetti di vetro piccoli o recipienti, ma i liquidi nei quali non si vuole si sviluppino germi. Se ne fanno soluzioni al 10 %, di cui si aggiunge 1 cmc. ogni 100 cmc. di liquido da sterilizzare, e questa soluzione è sufficiente perché se esperienze avrebbero dimostrato che al 3 % in pochi secondi (8-10) uccide i germi non sporigeni e al 2 % in qualche minuto i più resistenti come gli stafilococchi e che in diluizioni minori agisce male; tuttavia è certo che a lungo andare, aggiunto ai liquidi organici, si può anche nelle proporzioni del 0.5-1 % contare sulla sua azione, purché però non vi si trovino germi sporigeni.

Esso infatti è un debole sporicida, come risulta dalla tabella seguente:

TAB. 21.

Soluzione di fenolo al	Destino delle spore del b. del carbonchio	
	secondo Behring	secondo Montebelli
5%	morle in 3 ore	anche dopo 6-17 giorni
4%	" 4 "	souo vive
3%	" 24 "	
2%	non muoiono	

Si adopera anche per sterilizzare oggetti di gomma, ecc., ma meno frequentemente e meno bene, perchè potendo servire per essi il calore umido, si è più sicuri con questo di ottenerli sterili.

5° il cloroformio, il toluolo, l'essenza di senape, ecc., e in genere gli antisettici volatili si usano negli stessi casi dell'acido fenico; si possono poi liberare dai liquidi, scaldando questi leggermente a bagnomaria; l'aggiunta di cloroformio si fa per esempio alle grandi masse di siero da conservare, alle patine batteriche raccolte, e che debbono essere ulteriormente trattate per estrarre le proteine, le lisine; quella di toluolo si fa ai sieri preparati, alle soluzioni di tossine, ecc.

#### CAP. IV.

### PROPRIETÀ DEI BATTERI VERSO GLI ORGANISMI VIVENTI.

Studiando il modo di comportarsi dei batteri verso gli organismi viventi, si studiano le loro attività biochimiche.

Sotto questo punto di vista i batteri da qualche tempo sono stati distinti in *patogeni* e *non patogeni*, distinzione che oggi si è tentato di sostituire con quella di *parassiti* e *saprofiti*, divisi gli uni e gli altri alla loro volta in *facoltativi* ed *obbligati*.

Infatti gli studi sull'azione patogena acquisibile dai germi non patogeni, hanno condotto a ritenere che i non patogeni possono in condizioni speciali, divenire realmente patogeni.

Così è stato dimostrato che quei bacilli, che si trovano negli infusi in putrefazione, come il megaterio, il sottile, il mesenterico, possono, posti in cellette di collodion nel peritoneo di cavie o di conigli, acquistare tale un'azione patogena, che coltivati nei comuni terreni di nutrizione acquistano le proprietà di un germe setticoemico, che uccide cioè, gli animali per setticemia o tossiemia.

Studi analoghi fatti (Casagrandi, Martoglio) anche in rapporto ai coechi e ai cosiddetti batteri *simil-patogeni* (simil-tifi e pseudo-dif-

terici), che nell'ambiente si trovano privi di azione patogena hanno condotto a trovare che essi nei substrati che contengono i prodotti solubili ed insolubili dei germi patogeni, possono divenire pure patogeni.

### A. — Condizioni perchè un germe esplichi un'azione patogena.

Le condizioni necessarie perchè un germe eserciti la sua azione patogena, sono relative all'organismo che lo ospita, ed al germe medesimo.

#### I. Condizioni inerenti all'organismo.

Le condizioni inerenti all'organismo da tenersi presenti, in fondo sono due:

1° la via d'entrata;

2° la presenza di una recettività all'infezione.

VIA D'ENTRATA. — La via d'entrata ha molta importanza pel decorso ulteriore dell'infezione. Così Wyssokowitsch ha provato che un gran numero di germi sono rapidamente distrutti quando s'introducono nella circolazione generale. I batteri del tetano non determinano la malattia se non penetrando per una ferita; invece *per os* si mostrano innocui, anzi vivono spesso in commensalismo nell'intestino di alcuni animali domestici. Viceversa i batteri del colera non agiscono, nell'uomo, che pel tubo digerente. Il virus della peripneumonite dei bovini uccide facilmente gli animali quando s'inietta per la via endovenosa; invece per la via sottocutanea non produce che un flemmone poco grave. Al contrario si comporta il carbonchio sintomatico. Per alcuni germi la ferita della cute o delle mucose può essere molto superficiale, e forse può anche mancare (stafilococco, peste, morva, sifilide); per altri invece la ferita deve essere molto profonda (è quanto accade, più specialmente, pei germi anaerobici, come il tetano). In certi casi sono le manifestazioni cliniche che variano col metodo d'inoculazione; ad es. lo streptococco può produrre un'eresipela superficiale, un'eresipela tipica od un flemmone, secondo la profondità dell'inoculazione (Achalme).

ANIMALI RECETTIVI E REFRATTARI. — Gli animali da esperimento non sono recettivi a tutti i germi patogeni, per es. il pollo non lo è al carbonchio ematico; il cane non lo è alla tubercolosi aviaria ecc., come si può rilevare dalla seguente tabella, dove per ogni germe patogeno verso l'uomo sono indicati gli animali ordinariamente recettivi e refrattari.

TAB. 22.

Germi	Animali refrattari	Animali recettivi
Stafilococchi piogeni .	—	coniglio, cavia, ratto, topo, cane
Streptococchi piogeni	—	coniglio, topo, cavia, cane, ratto
Gonococco . . . . .	—	cani? conigli? cavie?
Diplococco della polm.	piccione	topo, coniglio, ratto, cavia, cane
B. influenza . . . . .	—	scimmia, coniglio, cavia, topo
B. coli . . . . .	—	cavia, coniglio, topo
B. tifo . . . . .	—	
B. peste . . . . .	pollo, piccione, cane, gatto	topo domestico e campagnolo, cavia, coniglio
B. morva . . . . .	pollo, piccione, topo bianco, ratto, cane, pecora	asino, cavia, topo campagnolo e domestico, coniglio, gatto, cane
B. carbonchio ematico	pollo, piccione, cane, ratto bianco, gatto, rana.	cavia, topo, coniglio, pecora, passero
B. edema maligno .	pollo, gatto, cane	topo, cavia, coniglio, ratto, pollo, piccione, cane, pecora
B. carbonchio sintomatico	coniglio	cavia, pecora
B. tetano . . . . .	piccione, pollo, cane	topo, cavia, ratto, coniglio
B. difterite . . . . .	ratto bianco, topo bianco	cavia, pollo, piccione, coniglio, cane
B. tubercolosi umana	pollo	cavia, coniglio, cane, scimmia
B. tubercolosi aviaria	cane, cavia	pollo, piccione, coniglio
Vibrione del colera . .	—	cavia, ratto

Si possono però rendere recettivi gli animali refrattari colle inoculazioni delle più diverse sostanze (tra cui premezzia l'acido lattico) oppure sottoponendoli all'azione di cause predisponenti, quali il digiuno, la sete, ecc. Tutti questi agenti hanno la proprietà, a quanto mi consta per ricerche personali, di diminuire grandemente la produzione di quelle sostanze protettive che si trovano nell'organismo e che servono a paralizzare sia l'azione dei corpi batterici di per sé, sia l'azione dei loro veleni, cioè le *alessine* o *complementi* del sangue, i quali (v. Parte I Cap. V.) hanno la proprietà di distruggere germi coll'intermezzo della sostanza detta *sensibilatrice*, *addimento* o *desmone*, ecc. che dopo attaccatasi al germe permette si esplichino l'azione del complemento.

E di fatti se si sottopongono al digiuno dei piccioni, inoculati 10 o 20 giorni prima di carbonchio, si trova che dopo 7-8 giorni di digiuno gli animali muoiono; e se prima si va a studiare la quantità di alessine libere nel loro sangue, si trova che essa è di molto diminuita rispetto a quella d'un piccione sano (Casagrandi).

## II. Condizioni inerenti al germe.

Le condizioni inerenti al germe sono la virulenza e la tossicità.

1. LA VIRULENZA non è altro, secondo il Roux, che l'attitudine che ha un germe a moltiplicarsi in un organismo vivente, producendovi dei danni.

Ora non tutti i germi patogeni si trovano in condizioni di virulenza costante: questa può aumentare o diminuire.

Per mettere i germi in condizioni di adatta virulenza si possono inoculare in una serie di animali recettivi passandoli dall'uno all'altro o, più semplicemente, anche coltivandoli in condizioni anaerobiotiche, perchè vi sono dei germi che in queste condizioni possono divenire virulenti.

2. LA TOSSICITÀ è l'attitudine che ha un germe di produrre dei veleni.

Un tempo si faceva una grande distinzione tra germi virulenti e germi tossici; i primi si ritenevano causa delle *infezioni setticemiche*, i secondi delle *infezioni tossiemiche*.

Questa distinzione oggidì non si potrebbe più ammettere nello stretto senso della parola.

Gli studi fatti sul meccanismo della infezione carbonchiosa, la quale si riteneva la più tipica infezione batterica, lo dimostrano. Non già che abbiano valore le ricerche di quegli autori che vollero considerarla una intossicazione tipica, dimostrando una ipotetica tossina (Marmier) e degli alcaloidi speciali (Martin), perchè la produzione di queste sostanze nessuno ha mai più potuto ottenere; ma perchè invece si può ritenere dimostrato che il b. del carbonchio è provvisto di una proteina dotata di forte potere necrotico e di azione coagulante diretta sul sangue, nè si può disconoscere che negli organi degli animali infetti si trovi dell'istone in maggior quantità che negli organi sani, sostanza dotata di azione tossica indubbia: e, neppure si può negare che nell'infezione carbonchiosa si producano sostanze emolitiche (Casagrandi).

E questo che si dice per l'infezione carbonchiosa può ripetersi per le altre infezioni per la diplococcia ecc.

Bisogna quindi ritenere che tutti i germi, siano o no setticemici, agiscano per la produzione di sostanze che alterano la intima funzionalità delle cellule dell'organismo.

Queste sostanze sino dai primi studi batteriologici sono stati distinti in due gruppi: *veleni primari* e *secondari*.

### Veleni primari.

I veleni primari sono quelli capaci di riprodurre i principali, se non tutti i sintomi della malattia.

*Tossine.* Il gruppo più importante e più tipico è rappresentato da veleni solubili (1) le così dette *tossine*, sostanze che hanno

(1) Alcuni hanno voluto intendere per tossine tutti i veleni batterici solubili ed insolubili, distinguendoli in eso ed endotossine. Ciò però genera una grande confusione, per cui è meglio intendere per tossine i veleni solubili secreti dai germi, con che ci si viene ad attenere al significato dato dai più antichi ricercatori ai veleni batterici.

molte relazioni con gli enzimi, tanto che sono stati detti enzimi tossici, e si sono ascritti al gruppo degli enzimi coagulanti, avvalorando un antico concetto della patologia delle infezioni, secondo il quale queste sarebbero analoghe a delle coagulazioni, e dando ragione nel contempo del perchè si producono le tossine stesse.

Infatti a quale scopo i batteri produrrebbero tossine? Naturalmente, per dirla col Gamaleïa, non per uccidere gli animali, poichè gli esseri viventi non vivono per la vita altrui, ma per se stessi. Bisogna pensare che i fermenti coagulanti servono all'assimilazione, alla sintesi produttrice dei corpi albuminoidi del determinato organismo, quindi i veleni batterici servono alla nutrizione dei batteri, alla sintesi delle loro speciali sostanze albuminoidee, all'assimilazione degli albuminoidi. È chiaro, dopo ciò, che i batteri, mentre si abituano a vivere in un determinato ambiente, ad assimilare il materiale di nutrizione di questo mezzo, separeranno in più grande quantità il corrispondente fermento, cioè il veleno, e diverranno più tossici.

Le molecole tossiche, secondo Ehrlich, sarebbero costituite di 2 parti: una atossica detta *gruppo aptoforo*, e un'altra tossica costituita di 3 parti che si producono successivamente: 1° *prototossina*, 2° *deuterotossina*, 3° *tritotossina*. La prototossina e la tritotossina nelle vecchie colture si trasformerebbero in *tossoidi* ossia in sostanze atossiche; la deuterotossina invece sarebbe più stabile, e manterrebbe la tossicità permanente alla cultura.

*Proteine, nucleoproteidi, nucleine*. Altri veleni primari sono prodotti da batteri, ma rimangono nel corpo dei batteri stessi.

Da studi fatti in Italia dal Maffucci, nella scuola di Koch, nel laboratorio sieroterapico del Behring, è stato dimostrato che dai germi si possono estrarre per mezzo del vapore acqueo sotto pressione, o per mezzo di soluzioni alcaline molto forti, o per mezzo di macerazione nell'acqua, delle sostanze che hanno una forte azione locale flogogena è un'azione pirogena e marantica: sono queste le così dette *proteine*. Queste sostanze si ritiene in genere siano degli albuminoidi che avrebbero la proprietà di resistere ad alte temperature (sopra 100°), di sciogliersi negli acidi concentrati, di precipitare con i diluiti, di esser facilmente neutralizzabili ecc. Però così come le intende la generalità dei batteriologi, sono piuttosto un miscuglio di diverse sostanze, tra cui può esserci il veleno batterico specifico. Esse comprenderebbero le nucleo-albumine o nucleo-proteidi, le nucleine ecc.

Per alcuni germi l'azione delle proteine si deve ai nucleo-proteidi.

Il Galcotti studiando i nucleo-proteidi dei vari batteri, che estraeva mediante soluzioni sodiche, riuscì a trovare che inoculati nelle vene producono stasi, trombi, edemi, coagulazione del sangue e morte, che, penetrati nel sistema linfatico, producono ingorgo della milza, delle ghiandole del Peyer, coagulano il plasma intercellulare epatico, necrotizzano la cornea e la cute, producono disgregazione granulare delle cellule renali. ecc.

Per altri germi l'azione si deve alle nucleine e agli acidi nucleinici.

Infatti il De Giaxa ha potuto riprodurre il tubercolo caseificato con la nucleina estratta dal bacillo della tubercolosi.

E il Ruppel ha dimostrato che la così detta *tubercolina del Koch*, la quale è una proteina (estratto glicerico o acquoso dei bacilli della tubercolosi), contiene una serie di corpi grassi, sostanze aromatiche, alcool, fra cui evvi il veleno del bacillo, che da un lato sarebbe rappresentato da una base, la *tubercosamina* e dall'altra da un acido, l'*acido tubercolinico*, aventi comuni un gruppo molecolare, il tossico.

### Veleni secondari.

Dei veleni secondari sono stati studiati per primi le *ptomaine*; altri che si producono esclusivamente nell'organismo o nelle colture sono stati studiati solo dopo.

Le ptomaine batteriche sono basi che hanno origine dalla scomposizione delle sostanze albuminoidi, basi che manifestano un'azione tossica, che può essere del tipo della curarina, della caffeina, della guanidina o dell'ammoniaca. I batteri non producono queste sostanze tossiche a caso: secondo il Gamaleia, nel nucleo in condizioni di vita latente inattiva si trovano quelle forze che passando nel protoplasma lo obbligano a compiere queste o quelle funzioni.

Per il passaggio di queste forze allo stato attivo, sono necessari degli eccitanti: essendo la cromatina un corpo acido e constando principalmente di acido nucleinico, per scioglierlo sono necessarie delle basi. Ora le ptomaine appaiono come uno di questi eccitanti dell'attività delle cellule sciogliendo e portando in circolo la nucleina acida.

Di molto maggior interesse sono invece i veleni secondari che si producono fuori e dentro gli organismi viventi. Uno di essi di recente scoperto negli stafilococchi, e poi in altri germi è da *leucocidina* la cui importanza è specialmente stata dimostrata nella infezione diplococcica.

Si sa che il diplococco della polmonite è stato eredito un germe tossico; ma il suo veleno è assai debole e non potrebbe spiegare di per sé solo perché gli animali morissero. Si è detto pure che contiene una proteina molto tossica: però questa primitiva osservazione non è stata riconfermata. In questi ultimi tempi invece si è potuta dimostrare la presenza di un altro veleno, della così detta *leucolisina*, ossia d'una sostanza che ha la proprietà di distruggere i globuli bianchi e che viene secreta dal diplococco come è secreta dallo stafilococco.

Un altro veleno secondario è rappresentato dalle *emolisine* batteriche, cioè da sostanze capaci di distruggere i globuli rossi degli animali in cui i germi si sviluppano.

Dagli studi fatti finora su questi veleni secondari risulta che posseggono la leucocidina tutti gli stafilococchi piogeni oltre al diplococco della polmonite e che posseggono l'emolisina moltissimi batteri patogeni e non patogeni: tra i patogeni sarebbero emolitici sui cospucoli rossi di cavia e di coniglio nelle condizioni ordinarie: lo stafilococco, lo streptococco, il diplococco, il b. influenza, il b. della difterite, l'*Actinomyces*, il vibrione del colera (?), il b. del tetano, il b. dell'edema maligno; non lo sarebbero il b. della morva, della peste, del tifo (?), della tubercolosi, del carbonchio ematico; però qualcuno avrebbe trovato il b. del tifo emolitico, e così pure io un poco il b. del carbonchio ematico.

Va notato che i veleni secondari secondo alcuni autori si produrrebbero solo negli organismi infetti per opera degli organismi stessi.

Infatti gli studi eseguiti dal Carbone avrebbero per es. dimostrato che quando un dato diplococco entra nell'organismo per la via sottocutanea o per altra via che non sia la endovenosa, nel punto d'entrata si ha grande accorrere di leucociti e consecutivamente produzione, da parte



del diplococco, del suo enzima lencolitico. Ora nelle distruzioni dei leucociti si libera una sostanza, che piglia il nome di *nucleo-istone*, di cui rimane l'*istone*, che produce la paralisi e la morte dell'animale.

## B. — Tecnica per lo studio delle attività biochimiche dei batteri.

### a) SEPARAZIONE DEI VELENI BATTERICI PRIMARI.

*Tossine.* — Per ricercare le tossine batteriche e in genere tutti i *veleni solubili*, occorre anzitutto coltivare il germe, che si suppone capace di poter produrre tale veleno, in un liquido. Poi bisogna studiar bene le condizioni del substrato in rapporto ai peptoni, alla glicerina, allo zucchero, ai sali, poichè se moltissimi batteri producono molti veleni là dove c'è peptone, glicerina, non si può dire altrettanto dove ci sono dello zucchero e dei sali.

Le brodoculture in cui si è sviluppato il germe si filtrano poi attraverso caudale porose e si raccoglie il liquido filtrato.

Si possono a tal uopo adoperare i più diversi dispositivi: i migliori sono quelli coi quali è possibile prelevare dal liquido filtrato determinate quantità del medesimo, a intervalli diversi senza dovere aprire i recipienti.

Io mi servo di una bottiglia di Kitasato a tubulatura laterale A (fig. 155): nel collo della

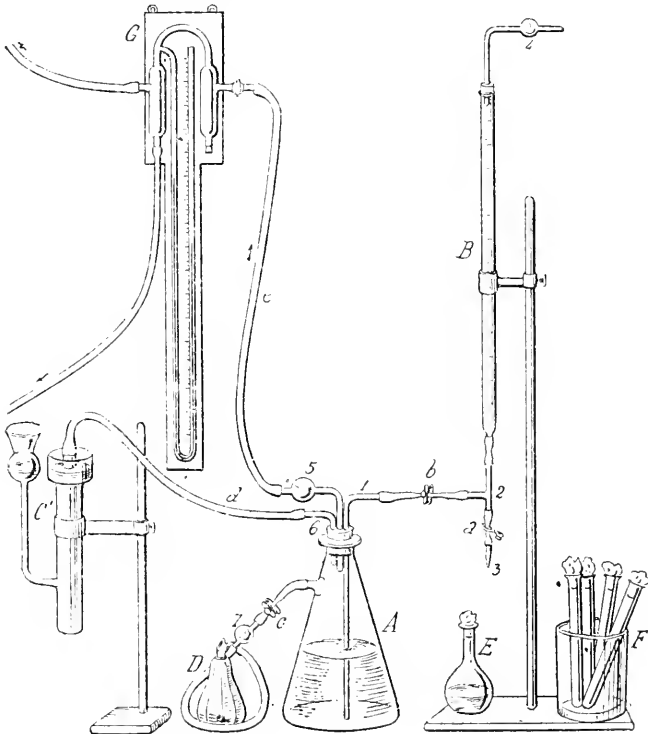


fig. 155.

bottiglia pongo un tappo di gomma a tre fori, per i quali passano tre tubi di vetro piegati ad angolo retto, uno dei quali 1 raggiunge il fondo della bottiglia; questo viene messo in comunicazione, per mezzo di una tubulatura di gomma, con la branca verticale di un tubo di vetro a T 2, le cui branche orizzontali a loro volta sono ammesse, sempre per mezzo di gomma, la inferiore con un tubo tirato a pizzetta 3, la superiore con una buretta graduata *B* munita al suo estremo di un tappo di gomma attraversato da un tubo con rigonfiamento a palla, pieno di ovatta pressata 4. Un altro dei tubi piegato ad angolo retto 5 munito anch'esso di un rigonfiamento pieno di ovatta, comunica con la pompa aspirante *G* per mezzo di un tubo di gomma; il terzo, infine, di questi tubi 6, è ammesso ad una candela porosa Chamberland, posta in un adatto recipiente *C* contenente il liquido da filtrare.

Nel tubo di gomma della pompa *D* è intercalata una tubulatura di vetro 7 con rigonfiamento a palla pieno di cotone ed è attaccato al tubo laterale della bottiglia Kitasato.

Ai tubi di gomma poi che comunicano con la buretta graduata *a* con la branca verticale del tubo di vetro a T *b*, con la tubulatura della pompa Centanni *c* e con quella della candela Chamberland *d*, sono applicate delle morsette a vite.

Ecco ora come si procede per far funzionare l'apparecchio.

Anzitutto occorre filtrare il liquido e raccoglierlo nella bottiglia di Kitasato; perciò si applicano le morsette al tubo della pompa Centanni *c* e al tubo di gomma *d* che mette in relazione la bottiglia con la buretta graduata. Così, facendo agire la pompa aspirante, il liquido passa nella bottiglia.

Quando se n'è raccolto una certa quantità, si tolgono le pinzette dei due tubi suaccennati e viceversa si applicano al tubo della pompa *c*, e al tubo della candela *d*; si osserva quindi se la pinzetta che stringe il tubo di gomma *a* applicato sotto la buretta stringe bene, quindi si preme sulla pera del Centanni *D*. Il liquido compresso entro la bottiglia sale allora entro il tubo 1 che vi pesca fino al fondo ed entra nella buretta graduata *B* ove si fa raggiungere quel livello che si crede.

Si arresta l'entrata del liquido stringendo la pinzetta applicata al tubo *b* che mette in comunicazione la bottiglia con la buretta.

Fatto questo si apre la pinzetta applicata al disotto della buretta *a* e si divide il liquido contenuto in questo, come si crede, entro recipienti sterilizzati *E* e *F*.

Prima di procedere a tutte queste operazioni occorre naturalmente sterilizzare le singole porzioni dell'apparecchio.

A tal uopo si pone nella pentola del Koch la bottiglia e la buretta con attaccata la candela dello Chamberland *A B C* e senza la pera del Centanni *D*. Il tubo di vetro 7 con la dilatazione ripiena di cotone applicato a quest'ultima deve rimanere attaccato al tubo di gomma *C* innestato alla tubulatura laterale della bottiglia.

Quando sia finita la filtrazione e rimanga del liquido nella bottiglia *A* ancora da dividere, si potrebbe togliere la candela *C* lasciando a posto il tubo di gomma *d* che si stringe con una pinza: ma, è meglio in questo caso dividere il tubo di gomma *d* della candela in due parti per mezzo di un tubo di vetro. Così si può distaccare la candela con la parte del tubo più vicino ad essa lasciando a posto il restante tubo al quale appunto si applica la pinzetta.

I veleni solubili si possono aver secchi precipitandoli con solfato di ammonio, che si toglie poi per dialisi (operazione sempre lunga e tutt'altro che alla mano) o per mezzo dell'alcool. Il precipitato si raccoglie e si secca in un essiccatore.

Infine, si può anche concentrare il liquido filtrato in apposito concentratore.

Sia che il liquido venga concentrato a bagnomaria a 40° C. in un pallone o in una storta in relazione con un refrigerante e con la pompa aspirante; sia che venga concentrato in una capsula contenuta entro un apparecchio nel quale si faccia il vuoto e in cui vi sieno sostanze essiccanti, gli è certo che la concentrazione del liquido si fa più rapidamente e più agevolmente se il liquido stesso viene posto frazionatamente negli apparecchi concentratori.

A tal uopo, volendo fare la concentrazione entro palloni, mi servo di palloni sferici a tre tubature; in uno dei colli del pallone introduco un tubo ripiegato che metto in relazione con un refrigerante il quale è innestato nel collo di una bottiglia a tubulatura laterale che è in relazione con la pompa di aspirazione. In un altro dei colli laterali del pallone si fa passare il termometro, nel terzo si introduce un tubo ripiegato che si mette in relazione per mezzo di un tubo di gomma con un tubo di vetro che raggiunge il fondo di una bottiglia a tubulatura laterale passando attraverso un tappo di gomma infisso nel suo collo.

Nella tubulatura laterale si innesta il tubo di gomma della pera di Centanni il quale tubo al solito è interrotto da una tubulatura di vetro con rigonfiamento.

Il liquido si fa entrare nel pallone facendo agire la pompa del Centanni come nell'apparecchio per la distribuzione dei filtrati sterili; solo per interrompere l'afflusso del liquido perchè nel pallone si possa fare il vuoto, è necessario stringere una pinza intercalata nel tubo che mette in comunicazione la bottiglia a tubulatura laterale col pallone, tubo che deve quindi essere di gomma.

Quando poi la quantità del liquido adoperata si è concentrata, siccome nel pallone c'è il vuoto, per fare accedere nuovo liquido basta aprire di nuovo la pinzetta applicata a questo tubo perchè il liquido venga aspirato nel pallone. Anche in questo caso l'accesso del liquido si arresta stringendo la pinzetta.

Volendo conoscere la quantità del liquido che si concentra, si può poi sostituire alla bottiglia a tubulatura laterale una bottiglia simile graduata.

Quando la concentrazione del liquido si faccia entro capsule poste in apparecchi da concentrazione speciali, si può fare la medesima distribuzione del liquido, man mano che si concentra.

L'apparecchio che più si presta allo scopo è il concentratore Casagrandi (fig. 156).

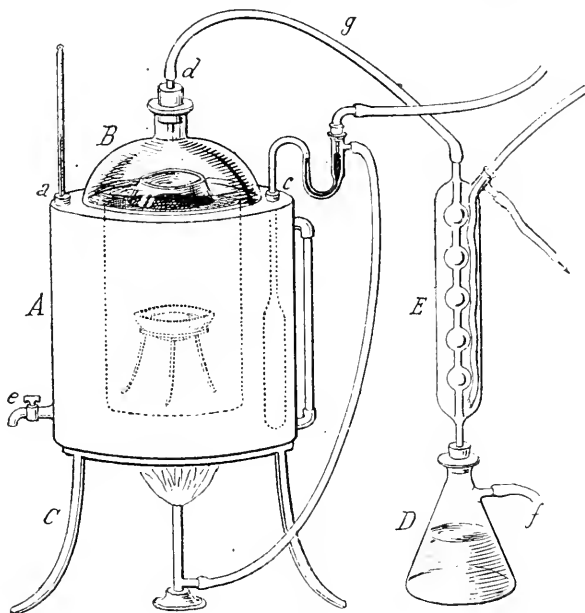


fig. 156.

Esso consiste in un recipiente cilindrico di rame a doppia parete *A*; con uno spazio tra le due pareti piuttosto ampio (circa 5 cm.); sul bordo è saldato un cerchio di ottone pulito al tornio che ha una larghezza uguale

alla metà dello spessore del recipiente (cm. 2,5) ed è saldato tutt'attorno al margine interno dell'apparecchio. Al di fuori di questo cerchio sono poi praticati due fori: uno *a* per il termometro, un altro per versarvi dentro l'acqua, un terzo *c* per il termoregolatore.

Sul cerchio metallico fornito, meglio con l'intermezzo di un cerchio di gomma, si pone un coperchio di vetro foggiato a cupola *B* con un labbro interno rialzato e col bordo finamente smerigliato: il vertice della cupola presenta un collo largo nel quale si può introdurre un tappo di gomma *d*: questo coperchio è in tutto identico al coperchio degli essiccatori di Hœmpel.

Entro al recipiente metallico per mezzo di sostegni si dispone in una capsula piana il liquido da concentrare e da evaporare. Nel labbro del coperchio si colloca dell' $H_2SO_4$  concentrato o cloruro di calcio ecc. Attraverso il tappo di gomma infisso nel collo del coperchio si fa passare un tubo di diametro il più possibilmente largo, il quale si piega ad angolo, e si mette in relazione con la pompa di aspirazione. Tutto l'apparecchio è sostenuto da un trepiede *C*.

S'intende che tra le due pareti del recipiente va posta dell'acqua bollita la cui quantità è segnata da un livello. Quest'acqua si può togliere per mezzo di un rubinetto *e* posto lateralmente e in basso all'apparecchio stesso.

Dopo questa descrizione si comprende facilmente come l'apparecchio possa funzionare.

Si versa una data quantità di liquido nella capsula che si dispone sul sostegno contenuto nel recipiente, si regola la temperatura intorno ai 40° C. e si congiunge il tubo *f* della pompa aspirante al tubo *g* annesso al coperchio.

L'acqua che si evapora dapprima si depona sulla parete interna del coperchio e ricade sotto forma di goccioline nell'acido solforico. In seguito, quando tutto l'apparecchio è ben riscaldato, viene aspirata dalla pompa. È bene quindi intercalare fra l'apparecchio e la pompa una bottiglia *D* a tubulatura laterale nella quale si raccoglie il distillato e fornire la boccia stessa di un refrigerante *E* così come è stato descritto per la concentrazione del liquido servendosi del pallone.

Si può anche introdurre nell'interno dell'apparecchio un termometro attraverso il tappo di gomma del coperchio per leggere la temperatura che si trova nell'interno del recipiente; però tale lettura non è sempre facile a farsi, poichè il velo di acqua condensata che riveste le pareti interne del coperchio, lo impedisce.

Oltre al termometro adoperando un tappo di gomma a tre fori si può introdurre un tubetto di vetro che raggiunga il fondo della capsula: questo tubetto di vetro, fuori dell'apparecchio, per mezzo di un tubo di gomma più o meno lungo, è messo in relazione con un altro tubo che raggiunge il fondo di una bottiglia a tubulatura laterale passando attraverso il tappo di gomma infisso nel collo della bottiglia.

In questa bottiglia si tiene il liquido da concentrare che viene spinto entro la capsula premendo una pera di Centanni il cui tubo è innestato nella

tubulatura laterale della bottiglia. Si arresta la spinta del liquido stringendo una morsetta adattata al tubo di gomma che congiunge il coperchio con la bottiglia a tubulatura laterale.

Quando il liquido versato nella capsula si è evaporato le nuove quantità di liquido è inutile spingerle per mezzo della pompa. Basta infatti allentare la vite perchè questo venga aspirato e cada nella capsula. Con quest'ultima disposizione che vien descritta dal Bajardi a proposito delle applicazioni della pera Centanni si può frazionare il liquido da evaporare nella capsula e si abbrevia l'operazione.

Invece poi di separare i veleni solubili con la filtrazione, si può anche aggiungere acido fenico o altro disinfettante (v. pag. 290-291) alle brodoculture e poi lasciarle riposare, oppure centrifugarle; ma è un procedimento che si presta meno bene. Ad ogni modo, quando si difetti di una pompa d'aspirazione e di candele porose vi si può ricorrere.

*Proteine, nucleo-proteidi, nucleine.* Per ricercare le proteine si preparano delle piatte su agar-agar, si versa sull'agar solidificato una certa quantità di brodocultura o di emulsione in acqua distillata di patine batteriche e poi quando sulle piatte si è sviluppata una patina diffusa (dopo 3-4 giorni a 37°) la si raccoglie con una spatola sterilizzata.

Se si vogliono estrarre i nucleo-proteidi, si trattano le patine con soda all'1% a freddo e poi la soluzione centrifugata o lasciata depositare, si filtra alla carta e si precipita con acido acetico.

Se invece si vogliono estrarre le proteine grezze, si seccano le patine in un essiccatore, si trituranle in un mortaio coperto, e quindi la polvere si tratta con acqua a caldo (ciò si può anche fare nella pentola di Papin a 110°) poi si centrifuga e si raccoglie ciò che rimane disciolto nel liquido.

Ove poi si vogliono le nucleine è bene trattare le patine prima coi solventi dei grassi (non però coll'etere solforico) e quindi, il residuo emulsionarlo in acqua o seccarlo.

Il disseccamento si fa in un comune essiccatore ad  $H^2SO^4$  o meglio nel concentratore già indicato.

#### b) SEPARAZIONE DEI VELENI SECONDARI.

Per ricercare i veleni secondarii, la tecnica varia a seconda dei veleni che si vogliono ricavare.

*Emolisine.* Per le emolisine il metodo migliore è quello indicato dal Neisser e Wechsberg.

A tal'uopo si fanno delle culture in brodo, le quali dopo un certo numero di giorni (non meno di 8) si filtrano alla candela porosa. Il filtrato (che si può conservare aggiungendo a 100 cme. di esso, 5 cme. di una soluzione di: acido fenico 10 cme., glicerina neutra 20 cme., acqua distillata 70 cme.) in quantità di 2-5 cme. si pone in una provetta cui si aggiungono 1-2 gocce di sangue defibrinato per es. di coniglio. Si pone quindi a 37° il miscuglio. Dopo un tempo variabile da 1 h. a 24 h. se nella brodo-cultura c'era emolisina, i corpuscoli rossi rimangono disciolti e il liquido assume un colorito rubino trasparente.

Si può anche stabilire con esattezza il valore della potenza emolitica applicando, come io ho fatto lo stesso procedimento indicato dal London per studiare la *vis emolitica* (*Vh*) dei sierii. A tal'uopo si fa una emulsione di 5 cme. di sangue defibrinato in 100 cme. di *NaCl* al 0,85% ed a 5 cme. di questa emulsione si aggiungono frazioni gradatamente crescenti o gradatamente

decrecenti delle brodoculture emolitiche. Dopo che le mescolanze sono rimaste nella stufa un certo numero di ore si prende nota del primo e dell'ultimo tubo in cui è avvenuta più completa l'emolisi e si stabilisce una frazione (a numeratore la quantità di brodocoltura da aggiungersi ad 1 cme. della emulsione sanguigna per ottenere la più debole azione emolitica, a denominatore la più piccola quantità di brodocoltura che bisogna aggiungere ad 1 cme. dell'emulsione per ottenere la massima azione emolitica) il cui quoziente è il  $\%.$

**Leucocidine.** Per le leucocidine si può adoperare il metodo indicato dal Neisser e Wechsberg per dimostrare la leucocidina stafilococcica.

In base al principio che i leucociti, quali cellule viventi, hanno bisogno di una certa quantità di ossigeno che sottraggono all'ambiente, gli autori pensarono di aggiungere ai leucociti del blen di metilene, il quale in presenza dei leucociti viventi riducendosi a leucobase, si scolora, e si mantiene così scolorato, quando si impedisca per mezzo di olio di vaselina che venga a contatto con l'aria.

Tale azione scolorante che hanno i leucociti è poi anche possibile calcolare. Per far questo si comincia col vedere se i leucociti hanno potere riducente. In un tubo da saggio del diametro di circa 7 mm., si versa  $\frac{1}{2}$  cme. di essudato diluito in parti uguali con una soluzione di ossalato di sodio all'1  $\%$ ; si riempie poi con soluzione di  $\text{NaCl}$  al 0,85  $\%$  sino ad avere un volume totale di liquido uguale a 2 cme., vi si aggiungono due gocce della soluzione di blen di metilene (blen di metilene 1: alcool assoluto 20: acqua distillata 20) diluita all'1 su 49 con soluzione di cloruro sodico al 0,85  $\%$ , e si versa sopra olio di vaselina. Se dopo due ore di permanenza nel termostato, il liquido blen diventa bianco nella sua metà inferiore, il potere riducente dei leucociti rimane dimostrato.

Dopo di ciò si stabilisce il potere riducente dell'essudato determinando la dose minima riducente.

Perciò preso un determinato volume di essudato si distribuisce in provette contenenti 2 cme. di cloruro sodico al 0,85  $\%$  e poi si aggiunge a tutti i tubi la soluzione indicata di blen di metilene. La quantità minima di essudato capace di dare ancora riduzione è la dose minima riducente o *limex riducens* o *L.r.*

Stabilito ciò si determina il potere leucocidico del filtrato colturale. A tale uopo si prende una quantità di essudato doppia di quella che nelle prove precedenti rappresenta l'*L.r.*, vi si aggiunge una corrispondente quantità di liquido leucocidico, si porta la miscela a 2 cme., aggiungendo cloruro sodico al 0,85  $\%$  e poi si pone nel termostato per  $\frac{1}{2}$  ora. Poscia si aggiungono 2 gocce di soluzione di blen di metilene e vi si versa sopra l'olio di vaselina.

Se il liquido aggiunto ha azione leucocidica, il sedimento dei leucociti, si colora anche esso in blen, se invece non l'ha, il sedimento rimane bianco. L'osservazione va fatta dopo due ore. Naturalmente per stabilire il potere leucocidico bisogna fare diversi tubi, aggiungendo quantità diverse di liquido leucocidico alla minima quantità riducente di essudato.

### C. — Tecnica delle inoculazioni dei batteri.

Per vedere se un dato germe sia patogeno è necessario inocularlo in animali.

1. PREPARAZIONE DEL MATERIALE. — Il materiale da inoculare può essere liquido o solido; se liquido si adopera generalmente tal quale; se solido lo stesso, introducendolo in una tasca cutanea o si cerca di ridurlo inoculabile come un liquido, emulsionandolo in soluzione fisiologica, dopo averlo stemperato in un mortaio o in bicchiere a calice o in un tubo da saggio sterile per mezzo, in questo caso, di una bacchetta di vetro a estremo smerigliato.

2. SIRINGHE D'INOCULAZIONE. — Le siringhe adatte a scopi batteriologici sono di molti modelli: ad aghi smontabili e ad aghi fissi, con stantuffo o senza, ne descriverò solo due: le più usate da noi.

*Siringa Tursini-Centanni.* Le più in uso sono quelle in cui l'ago è saldato al tubo di vetro, graduate o no.

Queste siringhe si fanno agire per mezzo di un corpo di pompa che può essere o uno stantuffo o una palla semplice di gomma o meglio la pera del Centanni.

Questa (fig. 157) consiste in una comune pera di gomma *A*, a pareti molto robuste, nella quale al collo si sostituisce un tubo metallico a *T*, di cui si infigge uno dei tratti delle branche orizzontali entro il collo della pera, mentre l'altro *a* rimane fuori e viene tagliato a becco di flauto in maniera da potervisi adattare il polpastrello del dito pollice; alla branca verticale *b*, che con questa disposizione data al tubo a *T* diviene orizzontale, si unisce un tubo di gomma *c*, che serve per innestarsi al suo estremo la siringa Tursini *d*.

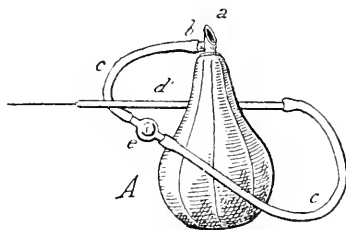


fig. 157.

Chiudendo col dito pollice l'orifizio a becco di flauto, e comprimendo nello stesso tempo la pera con la palma della mano, si fa il vuoto nella stessa; ed è possibile così farla agire da aspiratore rilasciando naturalmente il corpo della pera.

Comprimendo la pera, sempre tenendo chiuso l'orifizio a becco di flauto col dito pollice, si può per converso scacciare il liquido aspirato. Tanto l'aspirazione quanto la pressione si può arrestare quando si creda, togliendo il polpastrello del dito pollice dall'orifizio del tubo a becco di flauto.

Questo corpo di pompa del Centanni, semplicissimo e di facile maneggio, permette di fare le iniezioni senza l'aiuto dell'assistente ed ha vantaggio di essere applicabile a siringhe Tursini semplicissime, senza il buco nel vetro per arrestare l'aspirazione del liquido.

**Siringa Inghillieri** (fig. 158). È formata da un tubo di vetro che per mezzo di due strozzature è divisa in due parti che delimitano un rigonfiamento.

La parte *B* serve per recipiente del liquido, è graduata e termina in una oliva a cui si può adattare un ago di Pravaz, sia direttamente, sia interponendovi un breve tubo di gomma.

La dilatazione *C* serve ad impedire che per qualche falsa manovra il liquido penetri nella camera d'aria *A* dove scorre lo stantuffo. Nella sua estremità inferiore la parte *A* porta un batuffolo di ovatta. Lo stantuffo *D* si adatta al bordo della camera d'aria per mezzo di un anello metallico, cosicché si può togliere, tutte le volte che occorre, per sterilizzarlo.

Nell'estremità superiore presenta un bottone, nell'inferiore un disco di cuoio stretto da due dischi metallici. Le due estremità dello stantuffo sono aperte perché si possa ricacciare in giù il liquido senza versarlo, nel caso che la prima aspirazione non sia stata sufficiente a raccogliere la quantità voluta.

Invece di usarla con lo stantuffo, questa siringa si può benissimo adattare alla pompa Centanni, introducendo nella camera d'aria un tappo di gomma attraversato da un tubo di vetro che si adatta al tubo della pompa: così lo adopero.

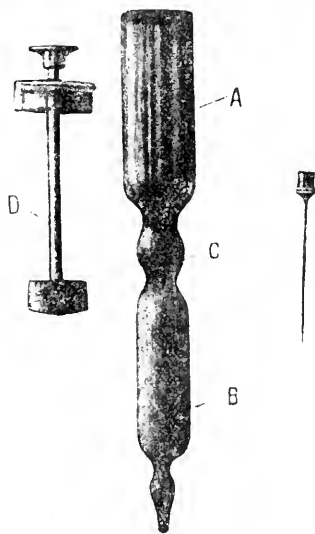


fig. 158.

L'ottima siringa la quale si usa quando è necessario iniettare quantità di liquido sino a 20 cme. è poi quella del Roux a guaina metallica e a stantuffo di gomma, la cui descrizione si trova ovunque.

Le siringhe di vetro Tursini, Inghillieri, ecc., trattenute entro tubi daoggio a mezzo di ovatta, si sterilizzano nella stufa a secco; quelle del Roux nell'acqua bollente agghiata, a

seconda dei casi, di un po' di carbonato sodico: la durata della sterilizzazione deve essere non minore di 15 minuti.

3. FISSAZIONE E PREPARAZIONE DELL'ANIMALE. — Per fare le inoculazioni si fissa l'animale; ciò che si ottiene o legandolo su particolari sostegni o, se si tratta di cavie e di conigli, afferrandoli colle mani sotto le ascelle e all'inguine. Fissato l'animale se ne rade in un punto il pelo manovrando la forbice contro la direzione di esso; quindi, dopo lavata la parte in cui si deve introdurre l'ago, con sapone e poi con acqua, si disinfetta con sublimato e si rilava con acqua distillata.

Si può anche adoperare la pasta al solfidrato di calcio che è un ottimo depilatorio, come ha dimostrato di recente il Montebelli.

Per farla si prende della calce di recente spenta, vi si aggiunge un'eguale quantità in peso di acqua, indi vi si fa gorgogliare dell'idrogeno solforato fino a far acquistare al latte di calce una colorazione verdognola.

Per usarla basta distendere accuratamente con una spatola un sottile strato della sostanza sulla regione che si vuol radere, lasciarvelo per due o tre minuti, poi lavare con un pennello resistente bagnato in acqua tiepida: si ha così la cute completamente detersa di peli senza tracce di irritazione.

4. VIE DI INOCULAZIONE. — Per le *inoculazioni sottocutanee* si solleva una plica della pelle, introducendovi alla base o lateralmente l'ago, che si fa penetrare per un certo tratto nel sottocutaneo.

Per le *inoculazioni nella cavità peritoneale*, è precepto afferrare a plica tutta la parete addominale, stringerla fra il pollice e l'indice e quindi infiggere l'ago fino a che non si sente più resistenza.

Le *inoculazioni endoreucose* si praticano nei conigli nella vena marginale dell'orecchio. A tal uopo, l'animale, si può dare a tenere a un inserviente. Perciò si fa passare il dito indice della mano destra sulla nuca, il medio sotto, le altre tre dita attorno al collo e colla mano sinistra si tengono ben tesi gli arti posteriori; così anche se l'animale fa degli scatti, questi non sono trasmessi alla testa. Dopo ciò non rimane che radere i peli dell'orecchio, disinfettarlo, comprimerlo alla base per farne rigonfiare le vene e in una di queste introdurre l'ago, dal quale deve sgocciolare, mentre lo si infigge, del liquido.

Se le inoculazioni si fanno nelle vene giugulari si tagliano i tessuti molli e si mette a nudo la giugulare esterna, e senz'altro si introduce l'ago nel lume di essa; fatta poi l'inoculazione, si lega sopra e sotto, (ciò nel cane è inutile), e si cuce la ferita che si lava con sublimato, si asciuga e si copre con collodion.

Per *l'inoculazione negli organi* si sceglie, in genere, il rene e il fegato e ad essi si arriva rispettivamente attraversando la parete dorsale, l'addominale o toraco-addominale a seconda dei casi.

Si fanno inoculazioni anche *nella cornea e sotto la dura madre*. Nel primo caso si fa tenere aperto l'occhio da un assistente, o col blefarostato; con una pinza si stringe la palpebra nititante e si devia; quindi con una lancetta o con l'ago si opera. Nel secondo caso si rade il pelo, si tagliano trasversalmente, in corrispondenza delle bozze frontali, per un centimetro, le parti molli



che si staccano unitamente al periostio. Con un trapano si leva un dischetto di osso, e quindi, penetrando con un ago orizzontalmente nel sacco subdurale, si inoculano non più di una — tre gocce del materiale. Si può, anche dopo scollato il periostio, forare l'osso con un bisturi (che si tiene in mano così che ne debordi un piccolo tratto), facendo dei movimenti di va e vieni, ma è un metodo poco consigliabile.

Le inoculazioni sottocutanee mediante le *tasche dorsali*, così dette perchè nel praticarle si sceglie il dorso, si fanno in genere alle cavie e ai topi. A tal uopo, dopo rasa e disinfettata la cute, questa si afferra con una pinza in senso longitudinale all'asse del corpo, si solleva, e fatto nella sua parte posteriore un taglio trasversale con le forbici, vi s'introduce un bisturi allo scopo di formarvi una saecocchia nella quale poi si immette il materiale. La ferita si copre con ovatta sterilizzata e si riveste tutta di collodion. È meglio però, prima di far questa operazione, suturare le ferite: quindi, ancor prima d'introdurre il materiale nella tasca dorsale, si passa qualche filo attraverso le due labbra della ferita, e messa la sostanza inquinante si stringono i lacci e si spalma il collodion.

1. SCELTA DELL'ANIMALE E LUOGO D'INOCULAZIONE. — In quanto alla scelta dell'animale e al sito d'inoculazione per la diagnosi dei principali germi patogeni, si possono seguire le indicazioni della tabella seguente:

TAB. 23.

Germi	Animali di scelta	Sito d'inoculazione
Stafilococco . . . . .	coniglio	cute rasa addome
Streptococco. . . . .	coniglio	sottocute padiglione orecchio
Diplococco . . . . .	coniglio	sottocute addome
B. Coli. . . . .	coniglio	sottocute padiglione orecchio
B. Tifo. . . . .	cavia	sottocute e peritoneo
B. Morva . . . . .	cavia maschio	peritoneo
B. Peste . . . . .	topo	peritoneo sottocute base coda
B. Influenza . . . . .	coniglio	sottocute
B. Differite . . . . .	cavia	sottocute torace
B. Tubercolosi . . . . .	cavia	sottocute coscia e peritoneo
B. Carbonchio ematico	cavia o coniglio	sottocute
B. Carbonchio sintom.	cavia	sottocute
B. E. lema maligno . . .	coniglio	sottocute
B. Tetano. . . . .	cavia	sottocute
V. Colera. . . . .	cavia	sottocute o peritoneo

## D. — **Tecnica per le autopsie batteriologiche.**

Quando l'animale inoculato muore, occorre farne l'autopsia, la quale ha il doppio scopo di mettere in evidenza le alterazioni anatomico-patologiche, provocate nell'animale dal germe durante l'infezione, e di permettere di isolare il germe dagli organi dell'animale stesso.

### I. **Sezione dell' animale infetto.**

**A. PREPARAZIONE DELL'ANIMALE.** — Per fare un'autopsia occorre fissare l'animale sopra un sostegno, e il metodo più comodo è quello d'inchioldarlo coll'addome rivolto in alto sopra un pezzo di legno o legarlo entro una bacinella di ferro smaltato fornita di fori lungo le pareti laterali: così fissato l'animale si lava con acqua calda e magari, ove occorra, con sublimato e poi con acqua bollita.

Quindi si preparano bisturi, forbici, pinze in una vaschetta di ferro smaltato contenente acqua con carbonato di soda, nella quale questi strumenti si sterilizzano facendo bollire l'acqua per 15 minuti.

D'altro canto si tengon pronti: del cotone bagnato in alcool sopra un vetro, una bacinella con soluzione disinfettante o acqua bollente in cui si buttano gli strumenti infetti, una lampada, un ago di platino, dei tubi con materiale culturale, delle capsule di Petri, sterili.

**B VARI TEMPI DELL'AUTOPSIA.** — 1. Si afferra con una pinza una plica dell'addome al di sopra del pube e si taglia trasversalmente con una forbice retta; si infila nell'asola la branca smussa della stessa forbice e si taglia, lungo la linea alba, la cute, arrestandosi alla base della testa. Si fanno allora quattro tagli lungo gli arti in maniera da mettere allo scoperto gli inguini e i cavi ascellari: nel suo insieme, attesa la posizione in cui l'animale è fissato, il taglio della cute assume una forma ad X. Si scolla quindi la cute stessa con un bisturi e si mette a nudo il sottocutaneo di cui si osserva lo stato.

Quando si debba fare l'autopsia di un volatile si fa l'asola nello stesso sito in modo però da interessare tutta la parete muscolo-cutanea, si introduce nel cavo toracoaddominale la branca smussa della forbice dirigendosi in dentro quasi trasversalmente all'animale in modo da tagliare lo sterno. Si ripete poi l'operazione dall'altro lato e così si viene ad aprire il cavo toracoaddominale a coperchio. È inutile di solito prima scollare la cute per osservare lo stato del sottocutaneo.

Bisturi, forbici e pinze si sostituiscono con altre, oppure si bagnano nel cotone zuppo di alcool e si dà fuoco all'alcool col quale sono rimasti inumiditi od anche s'immergono nella soluzione bollente.

2. Poi si afferra una plica muscolo-connettivale della parete addominale al di sopra del pube. Nell'asola si introduce la branca smussa delle forbici, si taglia sino alla base dello sterno e si seguita il taglio rasente all'arcata costale a destra e a sinistra, senza fare un taglio a croce come nelle ordinarie autopsie: così la cavità addominale è messa allo scoperto. Subito allora si

guarda allo stato del peritoneo, alla milza, al pacchetto ghiandolare mesenterico, ai reni, al liquido endoperitoneale, alle capsule surrenali: il fegato si vede meglio quando si è aperto il torace.

Per osservare la *milza* si afferra lo stomaco e lo si sposta a destra arrovesciandolo: la milza appare al di dietro di esso (quando si tratti della milza di un pollo, consiglio di scollare il ventricolo delle adiacenze con una pinza chiusa e poi rovesciarlo in alto: in fondo appare l'organo che ha forma di un pignolo). Per osservare le *ghiandole mesenteriche* si sposta il grosso intestino a sinistra sino a vedere l'inserzione del mesenterio. Per osservare i *reni* e le *capsule surrenali* si spostano tutti gli intestini, ecc.

3. Si prosegue dopo ciò l'autopsia: con le forbici si fanno due asole una a destra e una a sinistra che intacchino l'arcata costale e l'inserzione del diaframma: si entra in esse con la branca smussa delle forbici e si tagliano le costole dirigendosi in dentro e in alto sino al manubrio dello sterno. Quindi con una pinza si afferra la base di quest'ultimo, e rasente alla sua inserzione con la parete toracica si taglia, preferibilmente con una forcipe curva, il diaframma; così si vengono a conservare perfettamente le cavità pleuriche.

Si osserva allora lo stato della *pleura, dei polmoni, del pericardio* e si guarda se c'è liquido nelle cavità; poi si apre il pericardio e si osserva il cuore.

Il contenuto in sangue di questo si osserva afferrando con una pinza il cuore alla sua base, in maniera che si erga e la punta guardi in alto, e poi con una forcipe scaldata alla fiamma si taglia trasversalmente in corrispondenza dei ventricoli in modo da mettere allo scoperto le cavità.

## II. Reperti generali macroscopici.

*Se l'animale è morto per setticemia*, in genere si notano su per giù gli stessi fatti.

Coll'inoculazione peritoneale iperemia: di tutti gli organi, edemizzazione, emorragie, versamenti, ecc.

Coll'inoculazione sottocutanea si possono aggiungere fatti locali consistenti in chiazze emorragiche, edemi, ecc.

Coll'inoculazione endovenosa primeggiano gli ingorghi degli organi e gli stravasi sanguigni.

*Se l'animale è morto intossicato*, generalmente, negli organi non si trovano fatti degni di nota, si può però trovare qualche fatto locale nel punto di inoculazione.

Del resto le principali alterazioni che si trovano negli organi degli animali inoculati con i principali germi patogeni trovansi descritte nella parte II.

## III. Diagnosi batteriologica.

1. *Preparati dagli organi*. — Volendo fare preparati dagli organi, o si tagliano entro una capsula di Petri con una forcipe curva e si prende qualche frammentino con una pinza o con un ago sterilizzato alla fiamma, si schiaccia tra due portoggetti, e portato via il di più con la costola del vetro, si colora e

si esamina; oppure, dopo tagliato l'organo, si strofina sopra un portoggetti la superficie di taglio.

2. *Culture dagli organi.* — Se poi si vogliono fare colture, la superficie di taglio si tocca col fago di platino e si innesta il materiale raccolto nei relativi substrati; oppure si spappola bene l'organo, in scatole Petri, sempre con una forbice, tenendo però a posto il coperchio, e poi si tocca il materiale spappolato con fago di platino e si fanno innesti.

3. *Preparati dal sangue.* — Per fare preparati dal sangue si tocca la superficie di taglio del cuore con il bordo di un coproggetto e poi lo si striscia su altri vetrini puliti, disposti in piano sopra un foglio di carta bibula.

4. *Culture dal sangue.* — In quanto alle colture, si introduce l'ago di platino in una delle cavità ventricolari messe allo scoperto, si asporta un po' di sangue e lo s'innesta.

Per essere però sicuri di operare al coperto da qualunque inquinamento, è meglio non tagliare trasversalmente il cuore ma operare come segue: si afferra la punta del cuore con una pinza a denti di topo e si solleva tutto il cuore; si arroventa l'estremo di una bacchetta di vetro e si fa un'escara sull'orecchietta destra; si prende un bisturi appuntuto o una lancetta bene sterilizzata e si incide la parete dell'orecchietta nel punto in cui si è fatta la escara; s'introduce quindi attraverso l'apertura l'ago di platino, che una volta sporco di sangue, si innesta nei vari substrati di nutrizione.

Volendo poi lavorare al coperto da qualunque inquinamento io mi servo di una cameretta di lavoro, di cui ecco la descrizione e il funzionamento.

Tale camera ha la forma di un parallelepipedo alto cm. 55, largo cm. 50, e lungo cm. 45; il fondo è di legno, le pareti anteriore, laterali e superiore sono costituite da telai pure di legno, forniti di vetri. La posteriore è divisa in due metà nel senso della larghezza; la metà superiore è costituita da un telaio a vetri, la inferiore da uno sportello fornito di due aperture attraverso le quali si possono introdurre le mani e l'avambraccio. A proteggere poi l'interno della cassetta dalla penetrazione dell'aria attraverso queste aperture, al bordo delle medesime sono attaccate due maniche di stoffa impermeabile, le quali portano al loro estremo un elastico, di maniera che quando in esse si introduce la mano, la manica viene ad aderire al polso dell'operatore.

Il soffitto delle camere è mobile a *coulisse*, di modo che si può togliere, e dopo tolto è possibile levare la parte della parete posteriore fornita di vetro, poiché anche essa è mobile a *coulisse*.

Naturalmente, per chiudere la camera, se si toglie questa parte della parete posteriore, bisogna introdurre il soffitto orizzontalmente (lungo due guide), appena al di sopra dello sportello e sino ad accostarsi al vetro del telaio anteriore a cui si fa aderire per mezzo di ovatta. Così la chiusura invece che in  $A B C D$  si fa in  $A' B' C' D'$  (quando si adopera la cassetta non ridotta (cioè che si fa quando si voglia utilizzare maggior spazio in altezza)). L'operatore deve guardare attraverso il telaio della parete posteriore; quando invece si adopera la cassetta ridotta, l'operatore può, attraverso la parete superiore, osservare le manovre che fa colle mani nell'interno della cassa (fig. 159).

Nell'interno, attraverso un foro praticato in uno dei telai e fornito di ovatta, si introduce un tubo di gomma per la lampada a gas, oppure ci si serve di una semplice lampada ad alcool. Vi si introducono poi, aprendo lo sportello o l'apertura posteriore, gli oggetti necessari: mortai, forbici, tubi, ecc. Nel fondo si colloca sempre una lastra di vetro.

Le pareti della camera e così il fondo si lavano con una soluzione di sublimato, e poi per mezzo di un foro praticato in uno dei telai si mette in comunicazione con una stufa ad acqua e preferibilmente con un'autoclave, in modo da introdurvi dentro del vapore ad una sufficiente temperatura (80° C) per uccidere i germi che eventualmente possano essere sospesi nell'aria.

Gli oggetti devono porsi nella camera sterili anche all'esterno, e quindi si avvicinano allo sportello aperto, se si tratta di capsule, di tubi, di bocce, di mortai coperti con carta bibula: mentre funziona il getto del vapore acqueo, si toglie la carta bibula, e subito si pongono dentro:

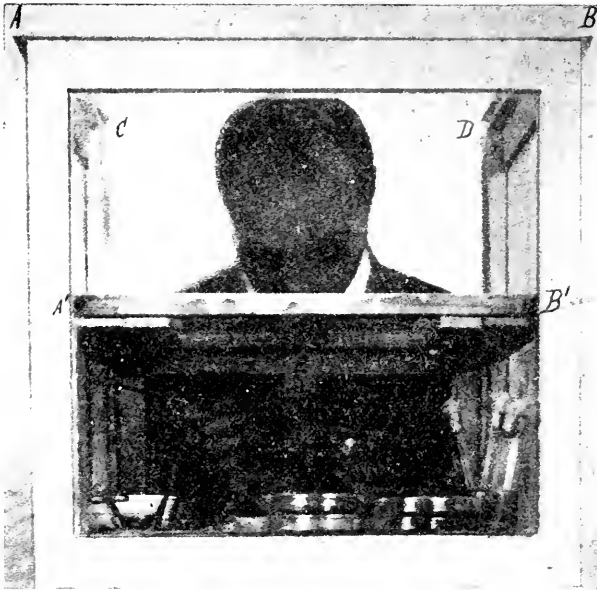


fig. 159.

se si tratta di strumenti, in recipienti contenenti acqua bollente ecc. Così pure il pezzo da tagliare deve porsi dentro dopo disinfettato e lavato, mentre funziona il getto del vapore acqueo.

Mi sono anche servito, per sterilizzare la camera, della formalina; ma è molto incomodo l'odore della stessa, perché sempre un poco ne sfugge dalle commessure. D'altro canto, per togliere questi vapori irritanti, sostituendo nella camera aria filtrata attraverso del cotone, quando poi la si apre per introdurre gli oggetti, non si è sicuri che non penetrino dei germi.

## CAP. V.

### MODO DI DIPORTARSI DEI BATTERI RISPETTO AGLI UMORI DEGLI ANIMALI IMMUNIZZATI.

Una volta che i germi sono penetrati nell'organismo, questo reagisce alla loro invasione e produce delle sostanze che si versano nei sieri degli animali stessi, *antitossiche, antiriculente, agglutinanti, battericide*.

Siccome sulla genesi di queste sostanze è fondato il modo di ottenere sieri immunizzanti e curativi, e siccome sulla presenza di

esse sono fondate speciali proprietà che vengono impartite ai sieri, delle quali ci gioviamo nella pratica diagnostica, così è necessario addentrarsi un poco nel meccanismo dell'immunità, senza di che sarebbe impossibile poterci intendere.

Quando un dato germe viene ad esercitare il così detto biofagismo, l'organismo cerca di opporsi, sia producendo sostanze che neutralizzano il veleno da esso germe secreto, sia producendo sostanze che distruggono il germe o lo danneggiano od anche ne ammantano la virulenza senza lederne la vitalità.

Il meccanismo di tale produzione si spiega colla così detta teoria di Ehrlich.

Si sa che inoculando negli animali delle sostanze tossiche o anche delle sostanze indifferenti, come albumine, caseine, enzimi ecc., si ottengono dei sieri antagonisti, i quali modificano la natura chimica di queste sostanze, per es. ne ammantano l'attività, ne determinano la coagulazione e la precipitazione ecc. Essi sono i sieri *antitossici*, *antienzimici* (*antiproteolitico*, *antipresamico* ecc.), i sieri *precipitanti*. Si sa pure che inoculando negli animali dei batteri vivi o morti, delle proteine o dei nucleo-proteidi estratti dal loro corpo, oppure degli elementi istologici, per es. emazie, cellule nervose ecc., si ottengono dei sieri i quali agglutinano, ledono, uccidono e talora dissolvono questi elementi (*sieri battericidi*, *antinfettivi*, *litici*).

Riunendo insieme tutti questi fatti, si possono stabilire, con Ehrlich, tre gruppi di sieri:

a) *sieri capaci di neutralizzare l'azione di determinate sostanze (tossine, enzimi): fra questi sieri figurano, come casi particolari, quelli antitossici;*

b) *sieri atti a modificare l'attrazione reciproca delle molecole proteiche libere in un liquido, o legate ai corpi batterici ed agli elementi istologici: sono questi i sieri agglutinanti (1) e precipitanti;*

c) *sieri capaci di esercitare un'azione nociva di fronte a cellule estranee all'organismo da cui provengono: fra questi sieri figurano, come casi particolari, quelli dotati di potere battericida e batteriolitico.*

Stando alla teoria dell'Ehrlich, occorre anzitutto farsi il concetto dell'istofisiologia cellulare, considerando ogni protoplasma vivente costituito di 2 parti, di cui l'una rappresenta il centro

(1) Recentemente Verney ha dimostrato che alcuni sieri agglutinanti neutralizzano le molecole tossiche legate ai corpi batterici. Si ammetteva invece che essi agissero sui batteri indirettamente, grazie a sostanze dette *stiorline*, atte ad eccitare i fagociti nella lotta contro l'infezione.

funzionale, e l'altra è quella che mette in rapporto questo centro coll'esterno ed è costituita da catene molecolari poste di fianco al centro (*catene laterali, seitenkettten o recettori*). Questi gruppi molecolari hanno un compito importantissimo nell'attività vitale del protoplasma, perchè servono alla sua nutrizione. Ehrlich ne considera tre specie: di 1°, di 2° e di 3° ordine.

Quelli di primo ordine avrebbero affinità con le molecole tossiche ed enzimatiche in genere, e in circolo costituirebbero le così dette *antitossine* e gli *anticorpi* a costituzione più semplice.

Quelli di secondo ordine avrebbero affinità con le sostanze agglutinabili o precipitabili: essi costituirebbero in circolo le così dette *agglutinine* e *precipitine*.

Quelli di terzo ordine da un lato avrebbero affinità con gli elementi cellulari estranei penetrati negli organismi, e dall'altro con una sostanza zimogena, secreta dalle cellule dei tessuti, la così detta *alexina, complemento, sostanza termolabile, addimento, citasi*, la quale distruggerebbe gli elementi cellulari estranei con l'intermezzo però dei recettori di terzo ordine. Questi, una volta staccatisi dalle cellule e liberi in circolo, si chiamerebbero *sostanze sensibilizzatrici, immunisine, corpi intermedi, amboettori, corpi fissatori, sostanze termostabili, anticorpi, preparatori, copule, desmoni, corpi immunizzanti, filocitasi*.

La produzione dei vari ricettori verrebbe stimolata da veleni e fermenti, da sostanze agglutinabili e precipitabili, ecc., con un meccanismo semplicissimo.

Secondo Ehrlich infatti, affinchè una sostanza introdotta nell'organismo abbia azione tossica, è necessario che possa fissarsi stabilmente sulle catene laterali. Ora, quando le sostanze tossiche s'inoculano in dose elevata, verrebbero a fissarsi su tutte le catene corrispondenti, rendendole inattive; le cellule fornite di queste catene non potrebbero più compiere normalmente la loro nutrizione, e morirebbero più o meno presto. Quando, invece, le sostanze tossiche s'inoculano in dose refratta, non si fisserebbero che su poche catene laterali; le catene rimaste libere basterebbero a compiere la nutrizione; e le cellule, pur risentendo un danno parziale, non morirebbero. Anzi esse secondo Ehrlich si liberano delle catene laterali combinate con le sostanze tossiche, divenute per loro inutili o dannose, e le riproducono, per la legge biologica generale dell'ipercompenso, in eccesso (Weigert). Così è che l'animale può essere inoculato con dosi via via maggiori di veleno senza morire; anzi, l'eccesso di riparazione è tale, che le catene laterali riprodottesi superano i bisogni delle cellule; le superflue vengono quindi messe in circolo, ove possono fissare il veleno: esse costituiscono le *antitossine*, che quindi non sono che catene laterali staccate, le quali saturando le molecole tossiche in circolo, impediscono che vadano a fissarsi sulle catene laterali delle cellule dei tessuti.

Così, secondo l'ipotesi dell'Ehrlich, si vengono a formare i *sieri antitossici*: e così è logico ammettere che si vengano a formare i *sieri antifermmentativi*, qualora invece della sostanza tossica, s'inoculi nell'animale una sostanza enzimatica.

Centanni ha stabilito che le catene laterali non sono presenti soltanto alla superficie degli elementi istologici, ma anche nel loro interno, dove costituiscono una vera forza di riserva, pronta a sostituire i corpi avanzati non appena questi, più esposti agli attacchi delle sostanze velenose, sono stati resi inattivi, o si sono staccati dal protoplasma cellulare.

I *sieri agglutinanti e precipitanti* si produrrebbero nello stesso modo.

Coll'inoculazione dei batteri viventi o dei loro estratti nucleo-proteidici, si stimolerebbe la produzione dei recettori di secondo ordine, che in circolo costituirebbero le *agglutinine*. Questi recettori, a differenza di quelli di primo grado, consterebbero però di due parti. F'una aptofora, capace di fissarsi agli elementi agglutinabili, l'altra zimofora, atta ad agglutinarli, ed essi si staccerebbero dalle cellule con queste due parti già indissolubilmente unite.

Finalmente il meccanismo di produzione dei *sieri citolitici e batteriolitici* può pure spiegarsi colla teoria di Ehrlich, così come è stata enunciata. Diremo col Galeotti « che anche in questo caso le sostanze iniettate vanno ad occupare le catene laterali dei protoplasmi dell'animale inoculato, che le perdite di queste catene laterali sono compensate da una rigenerazione sovrabbondante, che le catene laterali superflue si versano nel siero e che finalmente queste vanno a fissarsi sui materiali corpuscolari eterogenei qualora il siero reso attivo venga con questi in contatto ».

Però per spiegare il fenomeno della citolisi, è necessario che intervenga la sostanza presente nel siero normale, l'*addimento* o *alexina*. Questa, in condizioni normali, non può dissolvere le sostanze corpuscolari, perchè non può fissarsi colle medesime; ciò avviene soltanto quando nel siero si trova la sostanza intermedia specificamente (ricettori di 3° ordine o corpi immunizzanti), che ne permette l'azione.

I ricettori di 3° ordine consterebbero di due gruppi aptofori: l'uno citofilo, atto a fissarsi agli elementi da distruggere, e l'altro complementofilo, atto a fissarsi al complemento. Il complemento quindi, a differenza del gruppo zimoforo dei ricettori di secondo ordine, non sarebbe ordinariamente attaccato al corpo intermedio, ma libero negli umori, e vi si fisserebbe tutte le volte che ce ne fosse bisogno.

Può ritenersi dunque che la citolisi e la batteriolisi avvengano perchè nel siero degli animali trattati con determinate cellule (corpuscoli rossi, spermatozoi, leucociti, corpi batterici) o con alcuni loro derivati, come i nucleo-proteidi, si forma una sostanza, *corpo immunizzante*, capace di fissarsi sulle stesse cellule e di attirarvi l'*addimento*, che si trova già nel sangue sia degli animali immunizzati, sia di quelli che non lo sono.

Tanto i sieri antitossici, quanto gli agglutinanti, e i battericidi, sarebbero poi specifici, quasi senza nessuna eccezione, perchè le sostanze che conferiscono loro le dette proprietà vengono



prodotte dall'organismo come reazione allo stimolo delle sostanze tossiche, agglutinabili e corpuscolari corrispondenti, ed hanno quindi l'azione di neutralizzare soltanto queste e non altre, per quanto ad esse simili.

Il che risponde al noto assioma del Behring « che l'iniezione « di dati elementi in dati animali stimola negli stessi la produzione di sostanze nuove, specifiche, capaci d'impedire l'attività « degli elementi considerati ».

**AGGLUTINAMENTO.** Nella pratica diagnostica si mettono a profitto specialmente le *proprietà agglutinanti dei sieri* per identificare i germi.

A tal uopo si inoculano animali con colture virulente o attenuate o necrose, coi loro filtrati, o anche con gli estratti nucleo-proteidici.

Si praticano varie iniezioni (4-10 e più), secondo la quantità di materiale adoperata ogni volta e la forza agglutinante del siero, che si vuole ottenere. Poi si preleva il sangue.

Per ottenere il sangue dalla cavia basta pungere l'orecchio, badando di non attraversarlo da parte a parte: all'uopo conviene di tagliare prima i peli e ripulire la parte con ovatta imbevuta d'etere, ciò che ha anche l'azione di congestionarla leggermente. Se il sangue stenta ad uscire, si può allargare il foro e comprimere leggermente all'intorno, ripulendo ogni volta. Nei conigli occorre forare la vena marginale dell'orecchio e comprimerla alla base; anche qui è bene prima tagliare accuratamente i peli e ripulire con etere. Si potrebbero anche salassare gli animali da una carotide, od ucciderli e prelevarne il sangue dal cuore; ma in generale non occorre servirsi di questi mezzi, perchè poche gocce di sangue bastano alla siero-diagnosi. Quanto all'uomo, il sangue si può ottenere dal polpastrello di un dito o, meglio, dal lobo inferiore dell'orecchio, ripiegato tra il pollice e l'indice; pei bisogni pratici non è mai necessario il salasso da una vena del braccio.

Man mano che il sangue esce si aspira dolcemente in una pipetta; o in un tubicino da linfa vaccinica che si chiude alla fiamma. Si aspetta che il sangue coaguli, e che il siero si separi ciò che si favorisce con lo staccare il coagulo dalle pareti del tubo; si può del resto anche centrifugare. Poi si aspira il siero in un'altra pipetta molto affilata, che possa penetrare entro la precedente; oppure si raccoglie in un vetrino da orologio e poi si aspira. È necessario che il siero sia ben limpido; se non lo è, occorre lasciarlo in quiete finchè non sia chiarificato, oppure centrifugarlo.

Il siero così ottenuto si aggiunge, in proporzioni determinate, a colture in brodo o ad emulsioni omogenee di patine in agar; poi si osserva macroscopicamente, entro tubetti di vetro, se si formano delle nubeccole, dei fiocchetti che si raccolgano in fondo al tubo; e, microscopicamente, mediante gocce pendenti, se i batteri s'immobilizzano e si riuniscono in ammassi.

Le colture in brodo che una volta erano le più consigliabili per le ricerche macroscopiche, si è visto che si prestano meno bene delle emulsioni. Val

meglio quindi seguire la tecnica consigliata da Gruber, cioè emulsionare, nel brodo, un po' di patina di coltura in agar, badando però di non asportare l'acqua di condensazione dell'agar, dove gli ammassi sono abbondanti. Si ottiene così, molto facilmente, un'emulsione del tutto omogenea; la quantità dei batteri dev'essere tale, che l'emulsione medesima si mostri appena lattescente. Si potrebbe in certi casi, fare l'emulsione nella soluzione fisiologica di *NaCl*; ma, non è consigliabile perchè immobilizza alcuni germi.

Widal, Gruber, ecc. ritengono che col metodo microscopico possano farsi delle valutazioni molto più precise che col metodo macroscopico. Per eseguire queste valutazioni si sono immaginati vari mezzi. Deutsch conta, nelle gocce pendenti, il numero degli ammassi presenti nel campo microscopico; ma questo numero non è in rapporto colla forza agglutinante del siero: d'altra parte esso varia moltissimo, in uno stesso preparato, da un sito ad un altro; minimo verso i bordi della goccia pendente, diviene massimo al centro. Koelzer si avvale della mobilità dei batteri; ma non esiste alcun parallelismo tra questo elemento e la grandezza, la compattezza e la quantità degli ammassi: d'altra parte i termini di confronto stabiliti da questo autore sono poco numerosi. Verney utilizza due elementi: la grandezza dei grumi e la mobilità dei batteri. Questi possono essere: del tutto immobili; o mobili, ma che non si spostano da un sito ad un altro, e mostrano dei moti oscillatori più o meno rapidi, pur restando aderenti, per un punto del loro corpo, ai grumi di cui fanno parte; od infine nuotanti nel liquido e questi possono rappresentare la quasi totalità dei germi; una piccola minoranza; oppure possono essere approssimativamente la metà di tutti i germi. Da ciò cinque termini di paragone diversi, per giudicare della mobilità. Quanto alla grandezza degli ammassi, in alcuni casi si ha soltanto tendenza alla loro formazione; cioè nel campo microscopico si vede che tutti i batteri sono mobilissimi; ma, in molti siti, due o tre batteri si avvicinano, si riuniscono, rimangono in questo stato per un po' di tempo, e poi tornano a separarsi. Quando gli ammassi esistono, in certi casi sono formati da due, tre, quattro batteri soltanto; altre volte non si riscontra, in tutto il preparato, che un solo ammasso irregolare, reticolato; tra questi due estremi Verney intercala, un po' arbitrariamente, altri due gradi. Anche qui si hanno quindi 5 termini di confronto. Infine questo autore tiene conto anche della compattezza degli ammassi e del tempo che impiegano a formarsi.

Quanto al metodo macroscopico, le valutazioni precise sono difficili. L'agglutinazione si suole denotare coi termini di: fortissima, forte, mediocre, debole, dubbia, mancante; oppure si fa uso di asterischi, di crocette, di numeri, ecc. che corrispondono a queste designazioni. È bene indicare anche i caratteri della chiarificazione (rapida, lenta, incompleta) (1). Ma queste valutazioni sono quasi sempre troppo arbitrarie, sicchè solo in mani sperimentate il metodo macroscopico può dare dei buoni risultati.

La misura esatta della forza agglutinante di un siero riesce utilissima in certi casi; ad es., per distinguere nettamente un germe da uno affine non

(1) Io ho notato che in qualche caso la chiarificazione è dovuta a sostanze litiche, e non a sostanze agglutinanti: ciò succede specialmente quando si usano sieri che chiarificano aggrinti in proporzioni piccolissime, in modo da stabilire dei rapporti a 1 su 200000 e più.

basta sempre la ricerca qualitativa dell'agglutinazione, ma occorre anche quella quantitativa. Wassermann ha insistito molto su questo punto. In genere però, pei bisogni pratici, non occorrono delle misure rigorose. In ogni caso è necessario indicare le diluizioni alle quali si sono fatte le esperienze.

Sul decorso dell'agglutinazione possono poi intervenire vari fattori. Un'azione importantissima è devoluta al tempo. La grandezza degli ammassi cresce sempre più col tempo, anche perchè vari ammassi piccoli si fondono tra loro in uno maggiore; la mobilità invece è minima dopo 1-3 ore, e torna a crescere in seguito, per un tempo più o meno lungo. Il momento più adatto per giudicare della forza agglutinante di un siero è dunque dopo 1-3 ore. Si suole indicare sempre, nelle ricerche sull'agglutinazione, dopo quanto tempo si è fatta l'osservazione; ad es. la formula  $A_2 \frac{1}{500} = \text{****}$  denota che l'agglutinazione dopo due ore alla diluizione di  $\frac{1}{500}$  è fortissima.

Uno dei fattori meglio noti che agiscono sull'agglutinazione è il calore. Entro certi limiti questo accelera di molto il fenomeno; cosicchè, quando si ha fretta, conviene lasciare i preparati nel termostato. Per ricerche comparative invece, e dovendo ripetere spesso le osservazioni, è più comodo servirsi della temperatura della camera.

Il siero può essere diluito con una emulsione di batteri più o meno concentrata. Il grado di concentrazione è quasi indifferente: solo se i batteri sono eccessivamente scarsi o eccessivamente numerosi l'agglutinazione è lenta a prodursi, forse perchè nel primo caso i batteri sono troppo lontani gli uni dagli altri, e la forza che li attrae non può esercitarsi con intensità; nel secondo invece le agglutinine debbono ripartirsi sopra un numero troppo grande di batteri.

L'età delle colture è un fattore la cui azione non è bene stabilita; tuttavia sembra che con colture vecchie gli ammassi di nuova formazione siano meno evidenti. D'altra parte, com'è naturale, nelle colture vecchie la mobilità dei germi manca. Val meglio quindi servirsi di colture che abbiano 24 ore al massimo. Le colture uccise col calore o coi disinfettanti, invece, si agglutinerebbero bene; ed anzi si è tratto profitto da questo fatto per confezionare delle colture uccise (con aldeide formica) da servire pei medici pratici: però io non le consiglio.

L'età del siero di solito non ha alcuna azione, come ha constatato Widal, e come hanno confermato vari autori. Anche il sangue disseccato da vari mesi, se si macera in acqua od in soluzione fisiologica, è in grado di produrre l'agglutinazione; ed anzi nel Canada i laboratori adibiti alle siero-diagnosi ricevono soltanto, dai medici pratici, del sangue disseccato su carta bibula; ma è una pratica pure poco consigliabile.

Alle volte avviene che certi sieri, invecchiando, presentino il così detto *fenomeno paradossale*, osservato da Eisenberg e Volk, Lipstein, Wassermann, De Blasi. Accade cioè che a concentrazioni già forti non agglutinino, ma acquistino il potere di farlo a diluizioni più forti ancora, per perderlo a diluizioni molto elevate. Questo fatto è importante nella pratica, perchè indica come non basti sempre confezionare delle miscele a date concentrazioni, ma occorra farne anche a diluizioni elevate, per stabilire con certezza se i sieri agglutinino o meno.

La spiegazione del fenomeno paradossale è stata data da De Blasi e De Berardinis, ammettendo l'esistenza di due agglutinine, una delle quali, più instabile, si trasformerebbe facilmente in una sostanza incapace a produrre l'agglutinazione, ma dotata di una affinità molto forte per i batteri e che fissandosi su di essi impedirebbe l'azione dell'agglutinina ancora attiva.

Nelle diluizioni elevate essa diverrebbe molto scarsa, e quindi permetterebbe all'agglutinina attiva di unirsi ai corpi batterici che non hanno subito l'azione della prima e di manifestare la sua azione. A diluizioni elevatissime, infine, diverrebbero scarse tutt'e due per produrre un effetto qualsiasi.

È da notare ancora che, secondo alcuni autori, le sostanze che provocano la formazione degli ammassi sarebbero indipendenti da quelle che immobilizzano i batteri (agglutinine, immobilisine). Com'è naturale, quando i batteri sono già immobili non si può studiare l'azione dei sieri sulla loro mobilità; e quando essi sono già riuniti in ammassi, occorre disgregarli, oppure è necessario servirsi della precipitazione di cui parleremo in seguito. È quanto accade, ad es., per bacillo della tubercolosi.

Un'avvertenza della più grande importanza è di non trascurare mai i preparati di controllo.

Le sierodiagnosi comuni si possono fare con diversi apparecchi e in vari modi

#### PROCEDIMENTO DI LABORATORIO (CASAGRANI).

Col siero di animali il quale agglutini in proporzioni piccolissime, si possono usare delle pipette dove 1 cmc. è diviso in 100 e 200 parti, e delle burette della capacità di 10-20 cmc., divisi in decimi. Nelle pipette si mette il siero, nelle burette la coltura; occorre inoltre una serie di piccole provette della grossezza di una matita. In queste si lascia cadere una data quantità (un cmc. o frazione di cmc.) di coltura a cui si aggiunge, sempre a frazione di cmc., il siero. La pipetta e la buretta possono poi fissarsi verticalmente ad un apposito sostegno, men-dovi nella parte superiore un imbuto di vetro per mezzo di un tubicino di gomma.

All'estremo inferiore è utile innestare a mezzo di un tubetto di gomma una pipetta tirata alla lampada, in maniera che il foro sia estremamente sottile e non permetta la caduta di gocce superiori ad un centesimo o ad un duecentesimo di cmc. a seconda dei casi. Fatta la mescolanza della coltura col siero, si tappano le provette e si pongono nel termostato a 37° C., avendo cura di dar loro una posizione obliqua.

#### PROCEDIMENTI PRATICI SENZA APPARECCHI SPECIALI.

Quando invece si debbano usare dei sieri che agglutinino in proporzioni maggiori, e questo è il caso che ordinariamente si incontra nella pratica, si preferisce stabilire la proporzione fra siero e coltura, servendosi di gocce di siero e di gocce di coltura.

*Metodi di Vidal.* Un tempo Vidal si serviva di un pipetta graduata a piccolissime frazioni di cmc. e fornita di una pera di gomma; con essa misurava la quantità di siero e quella di coltura o di emulsione che doveva servire a diluirlo. Questo metodo è ancora adoperato in alcuni laboratori. Però è difficile e fastidioso regolare l'aspirazione con le dita; inoltre, lungo le pareti interne del tubo, rimane, per adesione, un velo liquido, che altera i risultati, perché rappresenta una frazione elevata della quantità di liquido contenuto nell'interno del tubo quasi capillare.

Widal adesso preferisce e consiglia un altro metodo. Si prende un tubo di vetro sterilizzato e chiuso con ovatta alle due estremità, si assottiglia nel mezzo alla fiamma, e poi si spezza nella parte assottigliata, in modo da avere due pipette con aperture regolari e perfettamente identiche. Con una di esse si aspira il siero, e se ne lascia cadere una goccia in un vetrino da orologio od in un tubo; con l'altra si aspira l'emulsione dei batteri o la coltura, e se ne lasciano cadere varie gocce. Dopo aver mescolato benissimo, si può procedere allo stesso modo

per ottenere una diluzione ulteriore. Ad es. con 1 goccia di siero e 9 di coltura si ha una diluzione ad  $\frac{1}{10}$ ; con una goccia di questa e 19 di coltura si ha una diluzione ad  $\frac{1}{200}$ , e così via. Variando il numero delle gocce e ripetendo varie volte le diluzioni è facile ottenere tutti i rapporti possibili.

Verney invece di due pipette, ne usa una sola, avendo l'avvertenza di rilavarla spesso in acqua bollente, e inoltre di aspirare una o due volte la soluzione da diluire, prima di lasciarne cadere una goccia, in modo da ridurre l'errore dovuto al velo liquido che rimane nell'interno del tubo. Le diluzioni possono farsi in vetrini da orologio, per confezionarne poi delle gocce pendenti, o in tubicini di vetro, per l'osservazione macroscopica.

Questo metodo è molto pratico; per usarlo basta avere una goccia di siero e dei tubi di vetro comune. È anche molto preciso; tuttavia la grossezza delle gocce non dipende soltanto dal diametro del foro, come sembra crederlo Widal, ma anche dalla tensione superficiale dei liquidi; quindi le gocce di siero e quelle di coltura non sono certamente eguali, ed il metodo non può pretendere ad un rigore troppo grande.

Se la quantità di siero è molto scarsa è consigliabile il:

*Metodo Valagussa.* Disinfettato il dito dell'infermo, l'A. l'asciuga molto bene con un poco di garza asettica e lo punge con uno spillo. L'uscita la goccia di sangue, con un sottile tubo di lina vaccinica fa entrare in esso per capillarità il sangue; così forma nell'interno una colonnina di sangue della lunghezza di 2-3 cm. Fonde poi i due estremi del tubo con un fiammifero, ed aspetta che il sangue coaguli. Dopo 10 minuti si comincia a separare il siero limpido in quantità sufficiente per eseguire la reazione agglutinante e dopo due ore e mezza o tre il siero separatosi è di circa un centimetro lineare.

In laboratorio si spezza fra le dita il tubetto a pochi millimetri dalla superficie libera del siero. Quindi il Valagussa suole impiegare, per avere all'incirca una misura costante della quantità di siero su cui sperimentare, un ago da cucire della scala inglese numero 6; ne taglia la cruna, la immerge nella colonnina di siero e fa la reazione con quella quantità di siero che aderisce alla cruna spezzata.

Deposto il siero sul vetrino, mette accanto ad esso un'ansa di coltura in brodo (di bacillo del tifo) di 24 ore e con l'ansa stessa la mescola al siero. L'osservazione si fa in goccia pendente.

Se la quantità di sangue aspirata viene a riempire per buon tratto il tubicino, difficilmente il siero riuscirà a separarsi sulla superficie libera del sangue, perchè il lungo coagulo l'impedisce. Allora per eseguire la reazione basta rompere il tubicino a livello del coagulo ed estrarre con la punta di uno spillo, per intero, il sangue coagulato. Il siero rimarrà libero nell'interno del tubicino e ve ne sarà una quantità sufficiente per eseguire in goccia pendente la sieroreazione.

Dopo 15'-20' e talora più presto, si osserva se i bacilli sono ammassati e privi di movimento.

Però il metodo di Valagussa abbisogna assolutamente di un'ansa di platino e di un ago calibrati (1); sarebbe consigliabile che venissero da qualche fabbrica messi in commercio, in modo da essere sicuri che realmente con la cruna si prenda una quantità di siero corrispondente circa alla quarantesima parte della goccia che può prendere l'ansa. Non essendo però in commercio non rimane che calibrare ansa ed ago da sé, ciò che importa molta più accuratezza di quel che non si creda e per la quale bisogna ricorrere alle bilancie di precisione.

*Metodo Carducci.* Questi ha fatto costruire delle pipette col beccuccio molto lungo e sottile, che sterilizza e conserva un recipiente sterile. Raccolto il sangue con un tubetto del Valagussa piuttosto di grande diametro e fatto separare il siero, ne rompe gli estremi con una pinzetta, introduce il beccuccio di una delle pipette in uno degli estremi del tubo e soffiando fa uscire siero e coagulo, che raccoglie in un vetrino da orologio. Con la stessa pipetta conta quaranta gocce di coltura che fa cadere in un altro vetrino da orologio, poi vuotata la pipetta dell'eccesso di coltura ne avvicina l'estremo al miscuglio di siero e coagulo, così il siero tosto sale ad una certa altezza per capillarità.

(1) Per calibrare l'ansa l'A. consiglia di pesare in una bilancia di precisione una determinata quantità di liquido e poi estrarne un'ansa e ripesarlo. Arguisce la capacità dell'ansa dalla diminuzione del peso del liquido. Lo stesso procedimento segue per sapere la capacità della cruna dell'ago.

Allora soffiando dolcemente all'estremo della pipetta fa cadere nelle 40 gocce di cultura una goccia di siero, rimiscola il tutto con un'ansa di platino e del miscuglio fa un preparato in goccia pendente.

PROCEDIMENTI PRATICI CON ADATTI APPARECCHI (CASAGRANDI).

Volendo poi essere assolutamente sieri di usare rapporti esatti, anche servendosi di piccolissime quantità di sieri, si può usare un adatto apparecchio da me costruito (fig. 160) che consta:

1° di una pipetta capillare *B*, composta di due parti: una tubulare (*b*) della capacità di  $\frac{1}{2}$  mmc. divisa in 5 parti, cui sussegue un'altra (*a*) della capacità di 10 mmc. divisa in 10 parti: di guisa che tutta la pipetta ha la capacità di mmc.  $10 \frac{1}{2}$ :

2° di un piattino e con due scavi profondi: uno piccolo (*d*) in cui può entrare alquanto comodamente la punta della pipetta, ed uno più grande (*c*) della capacità almeno di un mezzo mmc.:

3° di una serie di tubi capillari del diametro di 2 mm. a  $2 \frac{1}{2}$  mm.

Quest'apparecchio si adopera così: si raccoglie il sangue in tubo quasi capillare: formatosi il coagulo, alle estremità ed in mezzo, si rompe il tubo, si toglie via il coagulo e si sottra il siero a mezzo di una peretta *A* nel primo incavo (*d*), il più piccolo, della piastrina *C*. Si

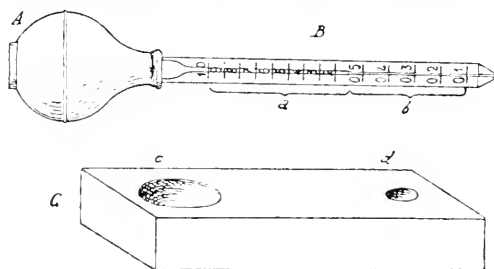


fig. 160.

aspira da (*d*) con la pipetta *A B* fino al primo segno ( $\frac{1}{10}$  di mmc.) e si immerge quindi la pipetta nella cultura in brodo recente (che si versa precedentemente in un vetro da orologio) e si aspira, di solito, fino al segno 2-10 a seconda del rapporto che si vuol ottenere ( $\frac{1}{20}$  ad  $\frac{1}{100}$ ). Se il siero è in quantità maggiore si possono aspirarne  $\frac{1}{10}$  di mmc., e allora bisogna successivamente aspirare una quantità doppia di brodocultura per ottenere gli stessi rapporti.

Si passa quindi, soffiando entro la pipetta, il materiale nell'incavo più grande (*c*) della piastrina e poi se ne prende un po' con un'ansa di platino e si fa una goccia pendente, che si osserva dopo 15-20 minuti, durante i quali viene tenuta in termostato. Si può anche prima aspirare la cultura, sottrarla nell'incavo più grande, e poi, lavata e asciugata la pipetta, aspirare il siero e soffiare nella cultura, lavando poi con la miscela la pipetta: ma, è meno comodo.

Dopo avere usato questo metodo, tengo però ad avvertire che il suo funzionamento è legato a una certa pratica, che si acquista in poco tempo.

Anzitutto bisogna aver cura nello aspirare il siero di procedere con molta precauzione, per non raccogliere troppo liquido o non far entrare qualche bolla d'aria, inconveniente che altera le proporzioni della miscela da farsi. Infatti aspirando con una certa veemenza, la colonna del siero sale nel tubo capillare, ne bagna le pareti e, anche quando se ne espella l'eccesso, rimane sempre un velo attaccato alle pareti stesse, per cui, invece di  $\frac{1}{10}$  o  $\frac{1}{20}$  di mmc., si viene ed averne aspirata una quantità maggiore.

In secondo luogo occorre, una volta aspirata la voluta frazione di mmc. di siero, badar bene a non far pressione nell'interno della pipetta al momento di immergerla nella cultura: ma, senz'altro aspirare appena immersa, arrestando l'aspirazione al segno stabilito, avendo sempre cura di non aspirare di più per non alterare le proporzioni del miscuglio.

In terzo luogo, una volta aspirato il siero, la punta della pipetta rimane bagnata dallo stesso materiale, il quale va tolto con un po' di carta bibula, altrimenti, immergendo poi la pipetta nella brodocultura, il siero aderente alla sua punta vi si mescola, e così si alterano del pari le proporzioni sierodiagnostiche.

Lo stesso si dica della brodocoltura che rimane aderente alla punta stessa: bisogna quindi dopo quest'ultima operazione pulire ancora una volta la punta, ciò che si può fare con un altro po' di carta bibula, che poi subito si brucia.

In quarto luogo, nel soffiare via la mescolanza di siero e di coltura, bisogna evitare di soffiare molto o forte per non fare uscire delle bolle d'aria, che mescolandosi al liquido formano della schiuma, la quale rompendosi schizza via dei germi: basta del resto una piccolissima quantità di liquido per fare un preparato a goccia pendente.

Infine, non è necessario sterilizzare l'apparecchio volta per volta al calore. Basta *lavarlo in acqua prima e poi con alcool ed etere e lasciarlo asciugare*; e però insieme all'apparecchio stesso occorre tenere tre bottigliette, una con acqua, l'altra con alcool e la terza con etere.

L'apparecchio offre il vantaggio di potere praticare la sierodiagnosi in proporzioni esatte, con minime quantità di siero (frazione di mme) il che non si può fare con verun altro apparecchio.

**PRECIPITAZIONE.** — Siccome anche questa proprietà è specifica, è ad essa che si ricorre in certe condizioni, di preferenza che all'agglutinazione.

Pel suo studio qualitativo basta aggiungere il siero, nel quale si vuole ricercare, al filtrato di una coltura in brodo, oppure ad una macerazione artificiale di corpi batterici, ed osservare se si produce un precipitato. Si può anche aggiungere il siero all'estratto nucleoproteidico sciolto in acqua alcalina.

Per lo studio quantitativo si nota a quale diluzione massima continua a prodursi il precipitato, e si designa il rapporto come limite di precipitazione.

**BATTERICIDIA.** Del potere battericida dei sieri per identificare i germi patogeni ci si serve di rado: nel caso però si voglia identificare il vibrione colerigerò, è ad esso che si ricorre preferibilmente.

Per studiare il potere battericida di un siero, si procede come per l'agglutinazione; cioè si aggiungono determinate quantità di siero a emulsioni di germi, e si osserva al microscopio in goccia pendente se i germi si dissolvono; oppure, ove sia debole o manchi il potere litico del siero, dopo un tempo variabile da  $\frac{1}{2}$  h. a 1 h. si aggiunge a queste emulsioni dell'agar o della gelatina e si fanno delle piastre.

Sapendo quanti germi contiene  $\frac{1}{10}$  di cme. dell'emulsione (ciò che si ottiene seminando tali quantità in piatte di agar o gelatina) si può arguire, dalle colonie che si sviluppano, quanti siano i germi che sono stati uccisi dal siero stesso.

Si fa molto bene la prova servendosi di capsule di Petri, da me modificate, nel centro del cui fondo sia praticato un incavo come nei vetrini portoggetti. In questo incavo si pone  $\frac{1}{10}$  di cme. della emulsione e la quantità del siero che si crede ( $\frac{1}{2}$  — 1 cm.) dopo  $\frac{1}{2}$  — 1 h. si aggiunge la gelatina o l'agar avendo cura di versarla con una certa forza in corrispondenza dell'incavo perchè i germi si possano distribuire bene.

Tuttavia, se esiste anche il potere agglutinante del siero, ciò che è il caso più frequente, il metodo delle piastre è molto inesatto, perchè si formano degli ammassi, composti talora da parecchie centinaia di batteri. Siccome ogni ammasso dà origine ad una sola colonia, enumerando le colonie che si sviluppano, e riferendone ciascuna ad un solo germe, se ne deduce che il numero dei germi è notevolmente scemato, ciò che invece non è. Anche

alcuni disinfettanti hanno la stessa azione. Quasi tutte le ricerche sul potere battericida degli umori sono state fatte senza tener conto di questa causa di errori, e quindi sono da rivedere. Solo quando nelle piastre non si sviluppa nessuna colonia, come nelle recenti ricerche di Wechsberg sul tifo, si è autorizzati a dedurre che esista un vero potere battericida.

Per lo studio della battericidia occorre far uso di siero freschissimo, perchè il *complemento* si altera, gradatamente trasformandosi in *complementoide*, il quale è sfornito di ogni azione. Si possono anche eseguire le ricerche aggiungendo del complemento (cioè del siero estratto da poco da un animale non trattato) ad un siero vecchio, specifico.

Un tempo, per queste ricerche, si usava soltanto il metodo di Pfeiffer. Si immunizzava, cioè, l'animale in antecedenza, e quando si era sicuri di avere prodotta l'immunizzazione, si inoculava nel peritoneo di un animale sano il germe che si voleva diagnosticare, insieme al siero dell'animale immunizzato, e dopo  $\frac{1}{2}$  h. - 1 h. si estraeva un po' di liquido dal peritoneo stesso e si facevano delle colture a becco di clarino in agar, nonchè preparati a goccia pendente, per vedere se i germi erano immobilizzati, deformati o disciolti.

Ecco, per es., come si opera ancora per il colera secondo il *metodo di Pfeiffer*, metodo che può valere del resto anche per altri germi.

Si uccidono col cloroformio delle colture di colera e si iniettano in piccole dosi in cavie in modo cioè che gli animali non presentino notevoli abbassamenti di temperatura nè fenomeni di intossicazione. Si inoculano allora le stesse cavie dopo circa due settimane con colture di vibriani colerigeni giovanissime (di 12 h - 20 h) fatte su agar, salendo a poco a poco da  $\frac{1}{4}$  a 5 anse stemperate in 1 cmc. facendo ogni inoculazione alla distanza di 8-10 giorni l'una dall'altra. Dopo l'ultima inoculazione si salassa l'animale e il siero si può conservare per vari mesi aggiunto di acido fenico al 0,5 %.

Si stabilisce quindi il titolo del siero ossia la dose minima capace di distruggere in un'ora 2 mmgr. di cultura emulsionata in 1 cmc. di brodo e iniettata nel cavo peritoneale di giovani cavie del peso di 200 gr.: tale titolo si esprime in mmgr. (il siero più attivo trovato da Pfeiffer aveva un titolo di  $\frac{1}{2}$  mmgr.).

Ciò fatto si prende il decuplo della dose minima attiva del siero (decuplo del titolo) si aggiunge a 1 cmc. di brodo in cui si sia emulsionata 1 ansa di vibriani virulenti e si inietta nel peritoneo di una giovane cavia del solito peso, servendosi di una siringa ad ago smusso che si fa penetrare nel peritoneo dopo avere incisa la cute con una forbice.

Dopo 20 minuti attraverso lo stesso foro si introduce un tubo capillare di vetro nel quale si aspirano (se non salgono da sè) piccole quantità di liquido e con questo liquido si fanno delle gocce pendenti. Se il siero aveva proprietà battericide i vibriani si trovano immobilizzati, trasformati in granuli o disciolti.

Giova però notare che col metodo Pfeiffer il complemento, quando si adopera del siero conservato a lungo con acido fenico, è scomparso nel siero stesso: quindi se la prova riesce è logico ritenere che esso venga fornito dagli umori dell'animale vivente. Oggi del resto, si preferisce l'osservazione *in vitro* (metodo indicato da Metchnikoff e Bordet): si mescola, cioè, la coltura del germe sospetto con un po' di siero che se è invecchiato si aggiunge di siero fresco di un animale nuovo, e poi si confezionano le gocce pendenti, oppure se si ha l'animale immunizzato vivente, si salassa e si mescola il suo siero tal quale all'emulsione. Anzi si preferisce il siero di quegli animali immunizzati il cui siero di latte agglutina i vibriani del colera (quindi l'immunizzazione si fa in cavie gravide e si prosegue durante il puerperio).



## PARTE II.

CARATTERI DEI SINGOLI BATTERI PATOGENI  
E MEZZI DIAGNOSTICI.

## CAP. I.

## CLASSIFICAZIONE DEI BATTERI.

La batteriologia speciale si occupa dello studio particolareggiato dei singoli germi.

Sia che in questo studio si abbia speciale riguardo alla descrizione di quelli patogeni per l'uomo e per gli animali, sia che non lo si abbia, per ben comprendere i caratteri dei batteri è anzitutto necessario disporli in un ordine determinato, cioè classificarli.

Le classificazioni sinora proposte dai botanici e dai batteriologi, corrispondono solo in parte ad un concetto scientifico, perchè la distinzione delle forme batteriche è stata basata quasi esclusivamente sui caratteri morfologici, quasi mai su quelli biologici, sicchè le classifiche si riducono ad essere un'accozzaglia di germi più o meno affini l'uno all'altro, i più incompletamente descritti ed inidentificabili, ciò che rende disagevole a molti, di tralasciare i confronti necessari allorchè si trovano ad aver isolato un germe non comune, e quindi facilita la creazione di nuove denominazioni, per germi già da altri veduti.

Tra le classifiche le più recenti sarebbero quelle del Fischer e del Migula (1).

(1) A titolo di curiosità dirò soltanto che in questi ultimi tempi alcuni batteriologi francesi hanno adottato la classifica del Trevisan, il quale si è permesso di sostituire a tutti i nomi indicanti il genere dei batteri delle denominazioni di nomi propri d'autore: ora questa classifica cervelottica, perchè non basata sopra alcun criterio scientifico, crea una serie di appellativi strani, i quali vengono intesi da pochissimi, e genera una grandissima confusione.

I batteri delle setticemie emorragiche ad es., sono stati chiamati *pasteurelle* in onore di Pasteur, il quale certo non aveva bisogno, per essere degnamente onorato, che i batteriologi sostituissero il suo cognome alla parola *bacterium* per un gruppo di germi! E mi pare che questo esempio basti.

Il Fischer distingue così i batteri: .

1° Haplobatteriacee :

Coccacee	}	Allococcacee	{	Micrococco (immobile)
		Omococcacee	{	Planococco (mobile).
		Sarcina.		
		Planosarcina (mobile).		
		Pediococco (a 4 od a tavola).		
		Streptococco.		
		Bacillus (immobile).		
Bacillacee	}	Bacillee	{	Bactrinium
		(Spore)	{	Bactrillum
			{	Bactridium
			{	Clostridiacee (spore fusiformi).
			{	Pletridiacee (spore a bacchetta di tamburo).
			{	Spirillacee (Vibrio, Spirillum, Spirochete).

2° Tricobatteriacee :

Filamenti immobili non ramificati con membrana :

Crenothrix (senza zolfo).

Thiothrix (con zolfo).

Cladotrix (ramificati pseudo-dicotomicamente).

Filamenti penduli mobili senza membrana : Begiatoa.

Questa classifica non regge più alla critica perchè:

1° riguardo alle coccacee, è dimostrato oramai che con opportuni metodi di colorazioni, non si trovano né cocchi né sarcine prive di ciglia, quindi non è possibile distinguere per questa proprietà i planococchi dai micrococchi, le sarcine dalle planosarcine;

2° riguardo alle bacillacee è troppo difficile accertarsi se un germe sia o meno peritrico con assoluta certezza, per potere stabilire degli aggruppamenti in base al numero delle ciglia: la tecnica di colorazione delle ciglia è troppo delicata, troppo insicura, perchè in mano a tutti possa permettere di condurre a buoni risultati: è straordinariamente più facile, nella maggioranza dei casi, trovare i germi privi di ciglia, che trovarli forniti; epperò ove si volesse seguire il Fischer, si finirebbe col trovare sempre dei bacilli, e raramente dei bactrini, dei bactrilli, dei bactridi. Dippiù in tutte queste forme il Fischer ammette la presenza di spore, fatto che può essere esatto; ma non bisogna dimenticare che per un grandissimo numero di batteri le forme di vita duratura non si sono potute dimostrare.

3° riguardo poi alla tricobatteriacee, è assolutamente inesatto stabilire distinzioni di gruppi in base alla presenza o non di granuli zolfo, poiché si sa che i granuli così detti di zolfo, non lo sono; come è inesatto stabilire differenze tra crenotrix e begiatoe, trattandosi di germi appartenenti allo stesso gruppo; finalmente non si sa che cosa intendere per thiothrix, e tanto meno per cladotrix, poiché né il Fischer né altri l'hanno ancora bene precisato.

Il Migula, distingue i batteri nei seguenti gruppi:

Coccacee	}	Streptococco.
		Micrococco.
		Sarcina.
		Planococco (mobile).
		Planosarcina (mobile).

Batteriacee	}	Bacterium (immobile con spore).
		Bacillus (mobile: ciglia in tutto il corpo; spesso con spore).
		Pseudomonas (mobili: ciglia ai poli; rare le forme con spore).
Spirillacee	}	Spirosoma (senza ciglia).
		Microspira (1-2 ciglia polari).
		Spirillo (5-20 ciglia polari).
		Spirochete (senza spore e forse con una membrana oscillante).
Clamidobatteriacee	}	Streptothrix (filamenti non ramificati — riproduzione per conidi).
		Cladothrix (filamenti ramificati - riproduzione per disseminazione di corpuscoli polari).
		Crenothrix (senza solfo).
		Fragmidothrix (filamenti non ramificati divisibili secondo tre piani).
		Thiothrix (con zolfo).
		Bejiatoe.

Nella classifica del Migula:

1° non reggono le distinzioni dei gruppi dei cocchi, perchè basate sulla presenza o assenza di ciglia: lo stesso si dica per quelle delle batteriacee:

2° in quella delle spirillacee, v'è il gruppo degli spirosoni, che è dimostrato non esistere: alcuni di questi spirosoni, come il *linguolis*, sono invece dei germi ramificantisi e quindi non delle spirillacee:

3° non è poi accettabile la distinzione delle famiglie delle clamidobatteriacee, perchè l'A. dà per streptothrix delle definizioni che non corrispondono ai fatti, intende le crenothrix diverse dalle bejiatoe: e le fragmidothrix e le cladothrix non si sa in che cosa bene differiscano tra di loro.

Nella pratica, nonostante ci siano dei dubbi sull'assenza, nelle forme batteriche, di endospore, si segue abbastanza spesso la classificazione del Lehmann e del Neumann i quali distinguono i batteri in:

Coccacee	}	Streptococcus (diplo-strepto)
		Sarcina.
		Micrococcus
Batteriacee	}	Stafilococcus.
		Pediococcus.
Spirulacee (vibrio spirillum, spirochete).	}	Merista.
		Merismopedia.
Ifomiceti	}	Bacterium (senza spore).
		Bacillus (endobacterium), (con spore.)
		Corynebacterium.
	}	Mycobacterium.
		Oospora.

Soltanto giova far rilevare:

1° che la distinzione delle coccacee in soli tre gruppi risponde male ai bisogni della pratica: specialmente l'unire nel genere micrococcus tutti i tetragenici e gli stafilococchi, genera confusione:

2° che se sarebbe giusto chiamare ifomiceti i germi che filogeneticamente si riportano ad ifomiceti, tuttavia siccome con questo nome intendiamo altri esseri molto e molto più grandi, come i penicilli, gli aspergilli, i mucor, si finisce col generare troppa confusione. Così, chiamare oospore gli streptotrix, è del pari poco pratico, perchè, in trattati botanici, per oospore sono intesi degli oidi.

A questi gruppi poi il Lehmann e Neumann aggiungono i leptotrix, le begiatoc, le crenotrix, le cladotrix, le thiotrix, ma non ripetono che le vecchie distinzioni di questi germi le quali oramai non reggono alla critica.

Ciò premesso, a me pare che la classifica la quale potrebbe maggiormente permettere al batteriologo di orientarsi in mezzo a tutti i germi scoperti e a quelli che ancora si vanno scoprendo, sarebbe quella che permettesse di raggruppare i germi simili, press'a poco, come ha tentato di fare il Flügge, tenendo nello stesso tempo presente la possibile filogenesi del gruppo stesso.

Io, da tempo, per necessità didattica, ho cercato di disporre in questo modo i batteri, distinguendoli in due grandi gruppi:

### I. Germi che sono molto affini alle alghe o derivano dalle stesse (?).

#### a) diagnosticabili col solo esame microscopico.

*Leptothrix* (forme filamentose lunghe, mai ramificate, sottili, di incerta posizione nella sistematica).

*Cladotrix* (alghe prive di clorofilla che non sono nè delle begiatoc propriamente dette, nè dei leptothrix, nè degli streptothrix) di esistenza incerta come germi a sè.

*Begiatoc prop. dette* (alghe oscillariacee prive di clorofilla a cui vanno riportate le crenothrix e la maggior parte delle cladotrix, delle thiotrix, ecc).

#### b) forme curve diagnosticabili coll'esame microscopico e batteriologico.

*Vibrioni* (forme isolate per lo più curve o a parentesi).

*Spirilli* (forme a spire corte).

*Spirocheti* (forme a spire grosse e lunghe).

#### c) forme rotonde.

*Micrococchi* (forme rotonde isolate).

*Diplococchi* (forme rotonde a due).

*Tetrageni* (forme rotonde a quattro).

*Streptococchi* (forme rotonde a catena).

*Sarcine* (forme rotonde grandi, a quattro e a cubo).

### II. Germi molto affini ai funghi o che derivano dagli stessi.

d) che si presentano nella forma tipica di miceli ramificati con coidi.

*Streptotrix* (che sarebbe meglio chiamare *cladotrix* ove per *cladotrix* non si intendessero delle alghe).

e) che solo in determinate condizioni di sviluppo presentano un micelio ramificato.

Micobatteri.

Corynebatteri.

f) che per certi caratteri del micelio (?) alcuni ricordano stadi di streptotrix, ma che per lo più si presentano come bastoncini corti e tozzi vacuolati.

Scifobatteri (nov. gen.).

g) che non è ancora dimostrato, salvo in qualche caso speciale, e non ancora ben assodato che diano luogo a forme miceliari, ma che certo possono formare dei filamenti.

z) senza spore, batteri propriamente detti, distinguibili in tanti gruppi risultanti dalla riunione di germi simili, secondo le indicazioni del Flügge :

1° gruppo dei batteri delle setticemie emorragiche ;

2° gruppo dei batteri dell'influenza e dello sputigeno ;

3° gruppo dei batteri capsulati e mucosi ;

4° gruppo dei protei ;

5° gruppo del *b. coli* e del *b. del tifo* e del *b. dissenterico* ;

3) con spore, bacilli propriamente detti, distinguibili nel gruppo dei bacilli : (spore nel mezzo, non deformanti) ;  
gruppo dei clostridi : (spore nel mezzo, deformanti) ;  
gruppo dei plectridi : (spore ad un estremo).

## CAP. II.

### LEPTOTRICEE, CLADOTRICEE. BEGIATOACEE.

Questi germi, sono quelli che non rientrano nei comuni gruppi delle batteriacee (1) e che furono dagli autori chiamati in vario modo :

dal Migula: *clamidobatteriacee* ;

dal Fischer: *tricobatteriacee*.

(1) Naturalmente, non hanno che fare con essi alcune forme non coltivabili (quindi diagnosticabili mediante l'esame microscopico) che si riannodano per la forma e le dimensioni ai bacilli, per lo più sottili e lunghi, disposti a strepto-bacilli o isolati, mobili o no, sempre colorati: sono questi i così detti *bacilli cromoforesi* di Fischer, che si possono dividere, alla loro volta, in vari gruppi, a seconda del colore del pigmento :

*b. purpurei* a pigmento rosso porpora :

*b. verde-foglia* a pigmento verde, nelle sue varie gradazioni :

Sono forme piuttosto lunghe, discretamente grandi: quasi sempre la loro membrana si mostra spessa, o perchè lo è realmente, o perchè ad essa è addossata una guaina.

Migula divide le sue clamidobatteriacee: in *streptothrix*, *cladotrix*, *crenothrix*, *fragmidiothrix*, *thiothrix*, *begiatae*.

Fischer le divide in: forme immobili e senza guaina (*thiothrix*, *cladotrix*, *crenothrix*); forme mobili e con guaina (*begiatae*).

Migula ritiene che tra le sue clamidobatteriacee vi siano forme di *streptothrix* ossia filamenti grandi, ai cui estremi vi sono conidi, e forme di *cladotrix* che sarebbero simili alle *streptothrix* salvo che si ramificherebbero.

Ma le streptotricce, quali si intendono comunemente, sono forme allungate, capaci di ramificarsi, e ai cui estremi si trovano conidi: sarebbe meglio riunire i due gruppi di streptotricce e di cladotricce insieme, chiamandoli con nome unico di *streptothrix* o di *cladotrix*. Le streptotricce del resto sono tutte coltivabili e rientrano nelle batteriacee propriamente dette e quindi possono venire diagnosticate con mezzi batteriologici.

In quanto alle *fragmidiothrix* si tratterebbe di forme a filamenti non ramificati che si dividono secondo tre piani e verrebbero a dar luogo a dei filamenti attorcigliati; ma di questi esseri bene individualizzati non se ne conoscono, per cui il gruppo, nel senso di Migula, non può accettarsi.

Dimodochè (tolte le cladotricce, le streptotricce, le fragmidiotricce), le clamidobatteriacee si riducono alle *thiothrix*, *crenothrix*, *begiatae*, ossia ai gruppi di tricobatteriacee indicati dal Fischer, dalla cui classifica vanno tolte le cladotricce per le ragioni dette a proposito della classificazione del Migula.

La diagnosi di queste forme è difficile:

**CRENOTHRIX.** — Le *crenothrix*, i così detti ferrobatteri, sarebbero esseri filamentosi, che non si ramificano, che non possiedono alcun granulo rifrangente, che sono forniti come di una membrana in cui si può depositare dell'ossidoidrato di ferro, per cui coll'andar del tempo diventano perfettamente rigidi. Esse si dividono trasversalmente dando allora luogo a filamenti articolati. I trattatisti affermano anche che quando sono molto vecchie ciascun articolo si può dividere in tre o quattro sensi, dopo di che si formerebbero all'estremo dei filamenti, dei corpiccioli rotondi, uscenti dai filamenti stessi, le così dette spore che caratterizzano la *crenothrix polyspora* o *kuhniana*: però si è visto che si tratta di forme cocciche, le quali si moltiplicano entro i tubicini della *crenothrix* quando è morta.

**THIOTRIX.** — Le *thiothrix*, i così detti *solfobatteri*, si trovano nell'acqua solfurea e contengono granuli splendenti forse a torto ritenuti di solfo: si distinguono dalle precedenti appunto per questi granuli.

BEGIATOE. — Le *begiatoe* sono tipiche alghe oscillariacee senza clorofilla, a forma ondulata, a contenuto granuloso, a parete ben netta, mobili con movimento oscillatorio o a pendolo.

Gli studi recenti fatti su questi esseri, tendono a dimostrare che tutti sarebbero delle *begiatoe*. Le *crenothrix* sarebbero *begiatoe* che in determinate condizioni acquistano la proprietà di assumere idrossido di ferro; le *thiothrix* delle *begiatoe* che in adatte condizioni divengono clamidobatteriacee capaci di vivere in acque solfuree, e infine le *begiatoe* propr. dette sarebbero quelle forme che si trovano nelle acque in genere. Quindi i batteri filamentosi, le clamidobatteriacee o tricobatteracee sarebbero rappresentate da sole *begiatoe*.

Le più importanti sono:

1° la *CRENOTHRIX KUHNIANA* che è il tipo delle alghe capaci di assumere il ferro e produrre i tubercoli ferruginosi nei tubi di ferro non incatramati: la sua guaina generalmente ha un colorito ocraceo. Essa è morfologicamente identica alla *beg. alba*, comunissima in tutte le acque: solo questa non ha la guaina ferrica;

2° la *BEG. TENUISSIMA* che è estremamente sottile, dotata di movimenti oscillatori: ad essa alcuni riportano la *leptothrix valderi* o *ochracea*: pare però che si differenzi dalla *beg. tenuissima* perchè quella è capace di assumere il ferro, e questa no;

3° la *BEG. RAMOSA* che è una *begiatoa* la quale nel dividersi dà articoli laterali in cui si depono del ferro: il ramo quindi diviene rigido e allora l'accrecimento dell'articolo principale si fa in un altro senso, donde la genesi delle ramificazioni. Questa *begiatoa* non si deve confondere con ifi di penicilli e di mucor che nelle condutture possono pure rivestirsi di ferro, i quali se ne differenziano perchè il diametro dell'ifi è sempre grande, dippiù è settato, e la deposizione del ferro si fa a grumi e non a capsula (Vol. I, pag. 138);

4° la *BEG. SPIRALIFORMIS* che è foggjata a spira ed è capace anche essa di assumere una guaina ferrica.

Di tutte, la più importante è la *B. Kuhniana* che produce il fenomeno *crenothrix*: essa cioè si moltiplica sulle pareti dei tubi di ferro non incatramati formando colonie, attorno a cui si deposita uno strato di idrossido di ferro, per cui si formano i tubercoli ferruginosi che possono finire coll'occludere il tubo.

Questo fenomeno può succedere anche nei tubi di terracotta; però in questo caso si tratta di una notevole riproduzione di ceppi di *begiatoe* che servono di terreno di coltura a parecchi

germi, per cui si formano interi blocchi di materiale melmoso che può occludere le condutture più piccole.

Va però notato che tutte le altre begiatoe possono dare il fenomeno *crenothrix*, e anche altre alghe: quali la *spirogyra elongata*, e funghi, come il *uncor mucedo*, il *penicillum glaucum*, il *tamnidium elegans* (Pellegrini).

Noi facciamo diagnosi di *crenothrix* notando filamenti isolati e liberi, rivestiti di guscio di colore ocreo a contenuto omogeneo, splendente, e solo alle volte con qualche granulo; si trovano però anche filamenti sottilissimi che vengono fuori come da un unico piccinolo, i così detti filamenti a nastro; ma in questo caso si tratta di un fenomeno involutivo (la *crenothrix* si è rotta in una serie di filamenti attorno ai quali si depono il ferro), quando non si tratti di un'altra alga descritta col nome di *gallionella ferruginea*, che secondo il Pellegrini è realmente una forma di ferrobatterio a sé. (V. Microscopia, Esame microscopico dell'acqua).

### CAP. III.

#### STREPTOTRICEE (ACTINOMICETI).

Sono germi filamentososi, molto lunghi, capaci di ramificarsi dicotomicamente e presentare all'estremo libero dei corpiccioli rotondi, disposti a rosario, che sono i conidi o artrospore, le quali si differenziano dalle spore vere perchè hanno una minor resistenza agli agenti fisico-chimici (fig. 161).



fig. 161.

Le streptotrichee si possono però presentare sotto forma di filamenti con o senza artrospore nel qual caso ricordano le forme di *leptothrix*, o si trovano sotto l'aspetto di una chetocladiacea [fungo costituito da un micelio rami-



ficato e intrecciato, con conidi terminanti con corpi laterali rinfrangenti, rotondi, che si fondono insieme (zigospore) e nel cui interno si formano dei corpiccioli sottilissimi (stilospore)] ciò che dimostra che le streptothrix si ramodano agli ifomiceti, anzi che potrebbero derivare dalle chetocladiacee stesse.

Non tutti gli autori usano il termine di *streptothrix*; alcuni le chiamano *cladotrix*.

Veramente, stando all'etimologia del nome queste forme si dovrebbero chiamare *cladotrix*, piuttosto che *streptothrix*; però generalmente vengono chiamate col secondo; ed è meglio conservare questa denominazione, per riserbare quella di *cladotrix* alle alghe che hanno presso a poco la struttura delle begiatoe, ma non hanno clorofilla e sono ramificate.

Le *streptothrix*, si chiamano *actinomyces* dal Gasperini e da altri, in onore del primo germe patogeno scoperto in questo gruppo (*actinomyces boris*): si chiamano anche *oospori* (dal Lehmann e Neumann, i quali non posero mente al fatto che in botanica le oospori sono oidi); *nocardie* dal Trevisan (in onore di Nocard).

### Caratteri morfologici.

I caratteri morfologici e culturali si ripetono in linea generale in quasi tutte le forme.

Sono esseri filamentosi, ramificati, provvisti di conidi, resistenti al Gram, immobili. In speciali condizioni di sviluppo lo estremo terminale del loro ifo si rigonfia, il che succede in modo tipico nell'*actinomyces boris*. Presentano i loro filamenti settati: ogni frammento può liberarsi dal filamento stesso e assumere quindi la forma di bacillo.

Alcuni nella forma bacillare hanno la proprietà di assumere, per l'intermedio di sostanze ancora non bene note, forse grasso o modificazioni speciali del citoplasma, alcuni determinati colori di anilina mordenzati e di non cederli in presenza di acidi.

Sono questi i così detti *batteri acidofili*. Tale resistenza è più evidente nelle forme parassitiche, specialmente in quelle che si coltivano difficilmente, come il b. della tubercolosi.

### Caratteri culturali.

*In gelatina per infissione*: se vi si sviluppano, per lo più la fluidificano, lasciando limpida la gelatina fusa; si forma alla superficie una massa biancastra consistente, a bordi irregolari e discontinui, che poi si accartocchia e cade al fondo.

Il nastrino è generalmente granuloso e presenta dei rami finissimi (fig. 162), più spessi e più evidenti nella parte alta dell'infissione che nella bassa, ove possono anche mancare.

*In brodo*: questo non viene intorbidato: vi formano colonie staccate, ramosse che precipitano al fondo, sotto forma di pallottoline

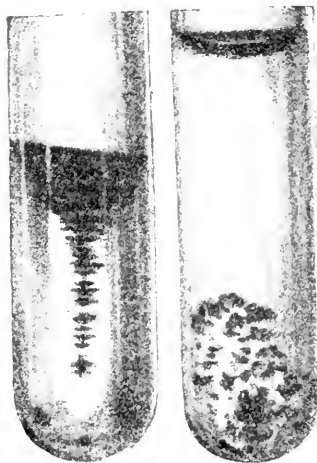


fig. 162.

fig. 163.

raggiate (fig. 163), o che si attaccano al tubo specialmente là ove il menisco aderisce alla parete del tubo stesso, dando luogo a un velo imperfetto e frammentato: solo in alcune forme parassitiche si forma un velo continuo omogeneo che più tardi si accartocchia assumendo la forma di una carta geografica in rilievo (tubercolosi).

*Su agar glicerinato solidificato a becco di flauto*: si sviluppano sotto forma di colonie staccate cupoliformi, bianco-sporche o colorate, a bordi raramente schiacciati, più spesso finalmente areolati (fig. 164), specialmente se si guarda la superficie della colonia che poggia sul substrato, nel quale si approfondono. Alle volte le colonie si

fondono dando una patina anfrattuosà, spessa, rilevata, a bordi irregolari, bianco-sudicia o variamente colorata. Invecchiando, la superficie della patina può ricoprirsi di una peluria farinosa di vario colore per la produzione di ifi aerei con spore.

*Su patate*: si sviluppano come sull'agar, però più facilmente si forma il pigmento: inoltre alcune possono sviluppare odori caratteristici. Sono tipici in questo terreno gli sviluppi delle streptothrix: *citrea*, *carnea*, *aurantiaca*, *albido-flava*, *terrigena*, *pluricolor*, *violacea*, *orangica*, *cinerea*, *nigra* (1), *aromatica*, *odorifera* ecc.

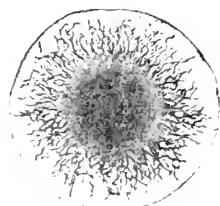


fig. 164.

### Caratteri biologici.

Questi germi posseggono gli enzimi proteolitico, diastatico, inversivo, ecc.

In genere uccidono gli animali in 15-30 giorni per l'azione marantica delle loro proteine: nelle patogene tale azione si specifica

(1) Questa streptotrix è quella nota coi nomi di *strept. cromogena*, di *cladotrix dicotoma*: di *oospora metschnikovii*; di *oospora chromogenes* (Lehmann).

nei nucleoproteidi e nelle nucleine, (b. tubercolosi) oppure si ha produzione di una tossina allorchè il germe ha perduto qualunque rapporto colla forma streptotricea (b. della differite).

Le streptotriccee patogene più importanti sono: *l'actinomyces bovis*, *la streptothrix madurac*, *la streptothrix farcinica*, *la streptothrix hominis* (?).

## Actinomyces.

### Caratteri morfologici e biologici.

*L'actinomyces bovis* (sinonimi: *discomyces bovis* e *suis*; *b. actinocladothrix*; *oospora*, *nocardia*, *streptothrix bovis*; *streptothrix actinomyces*) si trova negli attinomicomi del bue — noduli per lo più del mascellare, ripieni di linfociti — e nei muscoli del porco (*act. musculorum suis*) e specialmente nei punti giallo-verdastri o brunastri, che sono costituiti da un intreccio di filamenti sottili aggrovigliati, individualizzati alla periferia, ove terminano sottoforma di rigonfiamenti (*clave*) rifrangenti, in apparenza articolati, a contorni lisci o lobati (fig. 165).

Queste clave sono colorabili nei cespugli giovani specialmente col metodo Gram-Weigert. Da questi cespugli si possono fare colture su siero o su agar glicerinato e si ottengono colonie bianche, poi grigiastre con tendenza al giallognolo, anfrattuose e difficilmente fondentisi assieme.

In gelatina a piatto, e meglio in agar a piatto, si formano colonie dapprima rugiadiformi e cespugliose, nettamente delimitate che poi si rialzano a cupola e diventano opache, bianco-grigiastre.

Cresce in aerobiosi ed anaerobiosi in brodo ove difficilmente si forma un velo: generalmente si produce un sedimento costituito da un intreccio di filamenti a bordi areolati: il brodo rimane limpido.

In gelatina per l'infissione si sviluppa scarsamente: lungo il tramite si producono delle barbe corte e tozze; sulla superficie si forma una patina biancastra che poi si infossa.

Inoculando le colture in brodo agli animali, questi muoiono senza che si riproduca l'attinomicoma: si può però ottenerlo



fig. 165.

qualche volta inoculando loro direttamente il contenuto di un attinomicoma.

Nell'ambiente si trova sotto forma di *act. bovis sulfureus* (Gasperini).

### Diagnosi.

Per l'IDENTIFICAZIONE è assolutamente necessario, nella maggior parte dei casi, tener presente la provenienza del materiale dagli attinomicomi, dopo di che la ricerca si fa:

a) *per mezzo di preparati a fresco.* I granuli giallastri o grigiastri o più o meno colorati in bruno dal sangue (dopo averli lavati in acqua fisiologica, in modo da asportare le cellule linfatiche, o chiarificati con acido acetico) si schiacciano tra un vetrino coprogetti e uno portoggetti in una goccia di glicerina diluita, e si guardano a forte ingrandimento con lenti a secco o ad immersione. In mezzo alle cellule linfatiche più o meno intatte, si troveranno dei filamenti, alcune volte ramosi o a cespuglio, altre volte a frammenti, altre volte col caratteristico aspetto clavato.

b) *per mezzo di preparati colorati.* Il materiale trattato nello stesso modo, seccato e fissato, si colora col metodo del Gram; i filamenti rimangono colorati in violetto, il fondo in giallo o in rosa a seconda del colore di contrasto adoperato.

Notasi che per avere preparati più nitidi si può immergere il preparato, prima di colorarlo, in potassa al 0,01 % secondo il metodo del Löffler.

c) *per mezzo di sezioni.* I noduli si possono anche sezionare, colorando poi le sezioni con vari procedimenti, di cui il migliore è sempre quello di Gram-Weigert.

Per la DIAGNOSI DIFFERENZIALE, nei casi in cui il materiale non si sa se provenga da attinomicomi, bisogna tener presenti le altre forme di streptothrix patogene e non patogene dell'ambiente.

Per cui bisogna ricordare essere bensì vero che varie streptotrix non cromogene dell'aria, inoculate, producono dei noduli, ma che questi però non possono riportarsi agli attinomicomi del bue e dei suini.

Tra queste forme figurano l'*alba* (*s. clud. liquefaciens* di Hesse), la *Hofmani*, l'*act. albus* di Berestnew.

Del resto queste streptotricce non si clavano che eccezionalmente nei tessuti, e tanto meno nelle colture.

Alcune di esse coi ripetuti passaggi da animale ad animale o anche in altre condizioni di vita possono assumere un aspetto bacillare. Si conosce infatti una forma di *str. alba* che pare abbia relazione col *b. Zopfii* il quale nelle condizioni ordinarie si presenta come un tipico batterio (Casagrandi).

Occorre anche differenziare l'actinomicosi dalle così dette *pseudoactinomicosi bacillari o leptotricce*.

Si possono trovare infatti negli animali dei pseudoactinomicosi che si differenziano da quelli dati dall'actinomicosì perchè i granuli sono molto più grandi e voluminosi: spappolando questi granuli, il che è facile, ed esaminandoli, non si mettono in evidenza forme clavate; se qualcheuna se ne trova, ciò avviene molto di rado e si tratta di clave piccolissime; gli intrecci filamentosi sono poi costituiti di filamenti non ramificati, per cui i germi si assomigliano a leptotrix, tanto che alcuni autori hanno creduto che lo fossero realmente.

Coltivandoli su siero, non si riproduce la colonia cespugliosa, ma una colonia fatta di piccoli bastoncini a contenuto articolato, non omogeneo, che non formano mai artrospore e che quindi ricordano il b. della difterite.

Forme simili si possono trovare nei polmoni degli animali e nelle mucose e sierose del coniglio come la *str. cuniculi* (s. b. *necrophorus*, s. b. *difteriae citulorum*, s. b. *necrosebacillus*).

Finalmente siccome altre streptotricce si trovano negli animali, occorre sapere differenziare anche queste.

In genere esse non si trovano in actinomicosi tipici: manca poi la produzione della clave nei cespugli; e le lesioni in cui si osservano sono in animali diversi dal bue.

Nell'uomo sono stati trovati bacilli riuniti in cespugli, più o meno ramificati e con corpiccioli staccati, simili quindi a filamenti actinomicotici: sono prodotti da *streptotrix alba*.

È stata trovata una forma nel canale lacrimale, ove produce concrezioni calcaree: è questa la *str. di Eppinger o asteroides*: caratteristica per il colorito giallo-ocra che assume nelle colture: questo germe pare anche sia stato isolato da casi di meningite e di pseudotubercolosi, oltre che da un pus cerebrale.

Altre forme sono state trovate sulle palpebre e nel dorso della mano, ove determinano le così dette *botriomicosi*, che hanno molta relazione colla botriomicosi equina la quale segue alla castrazione.

La malattia più importante prodotta nell'uomo da una streptotricea è il *pie'de di Madura*: nel pus denso dei focolai, si trovano granolini gialli e alle volte neri (grani melanici), dai quali è coltivabile una streptotricea che sulle patate forma una patina rossastra.

Altre streptotrix si trovano nel naso e nella bocca, ove sono state descritte coi nomi di *vibrio nasalis* e *lingualis*: sono innocue e coltivate in terreni solidi, formano patine continue, rugose, mai accartocciate, e si approfondano alquanto nel substrato; in brodo si sviluppano al fondo come grumi gialli.

Nei bovini infine si può avere una malattia prodotta da una streptotricea, il *farcino bovino* che è dovuto alla *str. farcinica* (s. b. *nocardiac*) i cui cespugli sono fatti di filamenti intrecciati, mai clavati. Un farcino simile si riscontra anche nelle capre e nei cani, dove si parla di una *str. caprae*, di una *str. canis*. Queste streptotrix coltivate hanno i caratteri della *str. alba*.

## CAP. IV.

## MICOBATTERI.

In questo gruppo si possono oramai comprendere oltre al b. della tubercolosi, il b. della lepra, quello dello smegma e vari bacilli pseudotubercolari.

Esso è rappresentato da esseri che, come dicono il Lehmann e il Neumann, sopra i terreni nutritivi solidi formano coltave rilevate più o meno rugose ed asciutte. Microscopicamente sono bastoncini sottili e snelli, che spesso presentano una ramificazione dicotoma tipica e talora filamenti, ramificati o no.

I bastoncini colorati con fuxina carbolica riscaldata, cedono molto difficilmente la sostanza colorante agli acidi e si comportano rispetto ad essi presso a poco come le spore degli ordinari schizomiceti.

## I. B. della tubercolosi.

I bacilli della tubercolosi sono rappresentati da germi che si rannodano al tipo delle streptotricce perchè in determinate condizioni di sviluppo si moltiplicano, dando luogo a lunghi filamenti ramificantisi, e perchè i loro estremi si possono dilatare, rigonfiare a clava (fig. 166), e alle volte si frazionano in una serie di corpiccioli più piccoli, che ricordano le artrospore.



fig. 166.

Queste modalità di sviluppo si ottengono quando i bacilli della tubercolosi si coltivano in terreni liquidi, e si sviluppano al fondo del recipiente, avendo cura di aggiungere costantemente nuovo materiale di nutrizione; si possono anche avere coltivando i germi in organismi animali e specialmente negli animali a sangue freddo (rana p. es.): qualche volta si trovano pure negli spnti.

Il b. tubercolare non può però riportarsi ad un determinato tipo di streptotricea: benchè si sia detto che derivi da una *streptothrix alba*.

Invece pare che il b. tubercolare, in determinate condizioni di sviluppo, si ramifichi come una *streptothrix*, formi zigospore e stilospore, che quindi direttamente si possa riportare ai germi da cui forse filogeneticamente potrebbero derivare le streptothrix, e cioè ad una chetocladiacea.

### Caratteri morfologici.

È un germe sottile, lungo, a estremi affilati (fig. 167), qualche volta monoelavato (1) raramente biclavato: quando è giovane si colora uniformemente coi comuni colori di anilina a caldo, quando è vecchio si colora interrottamente, per cui appare articolato come se risultasse dall'unione di tanti cocci.

È immobile, resiste al Gram, coi colori mordenzati si colora con difficoltà, ma una volta assunto il colore lo cede difficilmente anche in presenza di acidi e d'alcool.

Non è sporigeno: le eredeute spore non sono che punti in cui il citoplasma è più adensato. È aerobio, però si sviluppa anche in presenza di poco ossigeno (coloro che lo hanno creduto anaerobio sono caduti in errore).

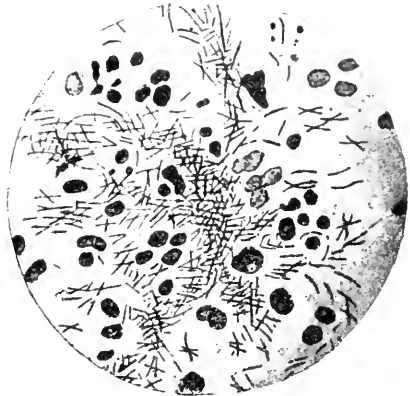


fig. 167.

### Caratteri culturali.

In *gelatina* non cresce: si sviluppa invece su *agar glicerinato*, o aggiunto a siero di sangue umano o di vitello, o in sangue intero di uomo, vitello, coniglio; e (quantunque non così bene come si dice) in agar all'albumosa di Heyden. Si sviluppa anche in *brodo*, purchè esso sia glicerinato o con aggiunta di siero di sangue o di sangue intero o di liquido ascitico e su *patate* glicerinate.



fig. 168.

Sull'*agar* forma una patina diffusa, notevolmente accartocciata, secca, scagliosa, verrucosa, rilevata nel centro (fig. 168).

Su *patate* forma una patina che ha gli stessi caratteri; ma se essa viene bagnata, in alcuni punti diviene molle.

In *brodo* si sviluppa sul menisco, ove forma un velo spesso accartocciato, bianco sporco; in ogni caso il velo si ottiene se sul brodo si pongono alcuni pezzetti di sughero. Alle volte si sviluppa però solo al fondo, formando

(1) Per questo aspetto alcuni lo hanno persino creduto un *clostridio* (?).

un deposito fioccoso, filante, melmoso, mentre invece il liquido non viene intorbidato.

L'ottimo di sviluppo è a 40°-41° C.

### Caratteri biologici.

Essi sono poco noti per le difficoltà di sviluppo in terreni adatti alla ricerca degli enzimi.

È patogeno per gli animali, alcuni eccettuati: e il suo modo di agire è legato non ad una tossina solubile dimostrabile, ma ad un veleno insolubile nell'acqua, insito nel suo corpo, cioè ad una nucleina, dalla quale trarrebbe origine il tubercolo.

L'animale poi morirebbe per l'azione della tubercosamina e dell'acido tubercolinico, i quali avrebbero comune il gruppo tossico (V. pag. 296).

Inoculato il b. tuberculare produce il tubercolo (costituito da cellule giganti e da linfociti) nel quale si trovano i bacilli tubercolari, colorabili omogeneamente se il tubercolo è giovane; quando invece è vecchio, allora il bacillo si trasforma in una serie di corpiccioli rotondi, acidofili, o mono e biclavati.

Il b. tuberculare si è voluto differenziare a seconda degli animali che infetta.

Si parla così di un b. della tubercolosi degli uccelli, dei mammiferi, dell'uomo, ecc.

IL B. DELLA TUBERCOLOSI AVIARIA si differenzia da quello dei mammiferi non tanto morfologicamente quanto culturalmente. Infatti forma sull'agar una patina umida, molle, grassa, ove pieghettata ed ove no: è più facilmente coltivabile, ed ha un optimum di sviluppo a 43° C., mentre quello del b. della tubercolosi umana lo ha a 41°; a 65° C. non muore, mentre quello della tubercolosi dei mammiferi muore; questo nella cultura si mantiene in vita solo 6 mesi, quello ancora dopo 10 mesi è vivo.

Il b. della tubercolosi dei mammiferi inoculato nelle galline e nei cani solo eccezionalmente produce tubercoli: l'altro invece è molto patogeno per le galline e per i cani, nei quali produce una tubercolosi diffusa. Nelle cavie inoculate con bacilli della tubercolosi umana, si ha tubercolosi diffusa; il b. della tubercolosi aviaria invece produce lesioni molto più limitate.

Però vi sono dei punti di contatto: così per es. l'Arloing è riuscito a trasformare la tubercolosi aviaria in quella dei mammiferi; da uccelli (piccioni) si è isolato un b. della tubercolosi con i caratteri di quello dei mammiferi, e viceversa negli stessi animali si sono avuti tubercoli prodotti dai due bacilli, come per es. nei pappagalli. Il De Jong ritiene che come il bacillo della tubercolosi del pollo può infettare l'uomo e gli altri animali domestici, così quello dei mammiferi sia suscettibile di trasmettersi ai volatili.



IL B. DELLA TUBERCOLOSI DEI MAMMIFERI in questi ultimi tempi si è creduto diverso da quelli della tubercolosi umana: certo il b. della tubercolosi umana, inoculato nei bovini, non riproduce la tubercolosi diffusa, però passando la tubercolosi umana ad altri animali, come a cavie e conigli, e poi inocolandola nei bovini (vitelli), si è potuto ottenere la morte di essi per tubercolosi.

Il Behring poi avrebbe dimostrato che i giovani vitelli, se trattati con uno qualunque di questi bacilli tubercolari, si immunizzano contro tutte e tre le varietà di tubercolosi, per cui secondo l'autore si tratta sempre dello stesso germe.

Del resto oramai la maggior parte dei recenti sperimentatori conviene nel ritenere identici i due bacilli. Così secondo il De Jong «la tubercolosi dell'uomo e quella dei mammiferi sono identiche e causate dallo stesso bacillo di Koch... solo il b. bovino è per lo più maggiormente virulento di quello dell'uomo». Anche quest'autore però ammette che accanto alla tubercolosi ordinaria, nei mammiferi si trovi una tubercolosi causata dal b. della tubercolosi aviaria. D'altro canto il Gratia in seguito alle molte ricerche fatte viene alla conclusione che si debba «ammettere che la tubercolosi umana e la tubercolosi degli animali domestici formino una sola e stessa specie morbosa dovuta a una sola e stessa specie microbica, il b. Koch». E aggiunge che «le differenze osservate fra i diversi rappresentanti della specie bacillo di Koch, riconoscono come fattori principali l'influenza del mezzo che loro serve di habitat ordinario, perchè esse si possono fare scomparire artificialmente variando le condizioni di esistenza di questi microrganismi, in terreni diversi ecc... Secondo l'autore la divisione della specie b. della tubercolosi nelle tre varietà *bovina*, *umana*, dei *mammiferi* è puramente convenzionale e schematica, perchè fondata su caratteri abituali ma non costanti, né ugualmente pronunziati: donde dei tipi di transizione non solamente nelle differenti specie animali, ma anche nella stessa specie. Le varietà umana e bovina che del resto sono le più affini si confondono spesso nei mezzi loro propri: e specialmente negli animali intermediari, quali la cavia, il coniglio, il cane, il gatto, la scimmia, il cavallo, il porco e la capra, sebbene anche per essi la varietà bovina sia abitualmente la più virulenta ecc. ».

### Diagnosi.

La ricerca e la diagnosi del b. della tubercolosi vanno fatte: nello sputo, nei liquidi, nei tessuti.

I. DIAGNOSI NELLO SPUTO. — Si può fare mediante la prova microscopica (fig. 169) e biologica.

La *prova microscopica* è fondata sulle colorazioni così dette specifiche (Vol. I, pag. 255).

Si prendono i grumetti grigio-biancastri dello sputo, si pongono fra due portoggetti (meglio che fra due coproggetti), si comprimono per distenderli bene; il materiale così stratificato si secca, si fissa e si colora col metodo Ziehl-Neelsen (meglio che con quello Ziehl-Gabbet) o col metodo Koch-Ehrlich.

I bacilli appaiono colorati in rosso (Ziehl-Neelsen) sul fondo bleu o in violetto (Koch-Ehrlich) su fondo giallo o rosa.

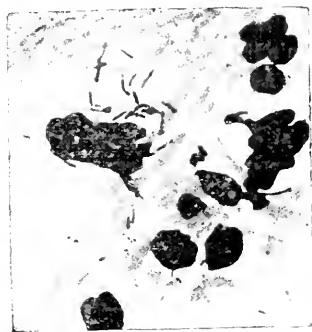


fig. 169.

Si possono anche adoperare altri procedimenti più o meno raccomandabili; ma essi però non sono entrati nella pratica comune, come i precedenti.

Questi metodi possiamo distinguerli:

in quelli in cui non si fa colorazione di contrasto (Bascalioni e Rondelli; Hanser, ecc).

in quelli in cui si fa la colorazione di contrasto, ma nella decolorazione si sostituisce l'acido solforico o il nitrico (secondo Günther, alcool cloridrico al 3 %; secondo Kühne, cloridrato di rosanilina al 2 % e poi alcool; secondo altri, acidi acetico, ossalico, citrico, ecc.).

Se gli sputi sono poveri di germi si possono trattare con vari procedimenti.

*Metodo Hammond.* — Si aggiunge allo sputo un egual volume di soluzione di acido fenico al 5 per cento, si agita la miscela per alcuni minuti e si lascia poi in riposo. Dopo un'ora i bacilli sono già radunati al fondo del recipiente, da cui si possono raccogliere con una pipetta di piccolo calibro: la colorazione si fa coi mezzi soliti.

*Metodo dell'omogenizzazione dello sputo:*

a) di *Biedert.* — A 15 cme. di sputo si aggiungono 100 cme. di soda caustica all'1 %; si lascia a sè per 48 ore e si esamina il deposito in una goccia di albumina d'uovo, perchè il materiale non si stacchi dal vetrino.

b) di *De Lamorse e Girald.* — Si mette l'espettorato sospeso in circa 10 volte il suo volume di acqua di Javelle diluita al terzo, e si agita di tanto in tanto. Si sviluppa cloro, che scioglie il muco ed il pus in 15 a 30 minuti, e resta un liquido torbido per gli elementi figurati che contiene in sospensione. Si lasciano precipitare questi elementi in un bicchiere conico, per 24 ore, oppure si centrifuga tutto il liquido nello stesso tubo in successive operazioni, e decantando ciascuna volta il liquido chiarificato, rimane in ultimo un deposito insieme a 2-3 cme. di liquido clorato. Il cloro allora è trasformato in cloruro sodico o potassico per l'aggiunta di 5 a 6 gocce della soluzione normale di soda o di potassa. La reazione è rapida anche a freddo. Il tubo, riempito poi di acqua sterilizzata, si centrifuga un'altra volta. L'acqua è decantata ed il deposito si mette sul portoggetti, si essicca, si lissa e si colora col metodo di Ziehl-Neelsen o di Koch-Ehrlich.

*Metodo proprio.* Io consiglio di fare un preparato con grande quantità di deposito e dopo seccato e fissato, immergerlo per 2-3 minuti in acido acetico glaciale (Macedonio) per chiarificare lo strato spesso dello stesso: dopo il trattamento con acido acetico naturalmente si lava e si torna a seccare, quindi si colora.

*Metodo dell'arricchimento dello sputo in germi:*

a) di *Hesse* — si prende un po' di sputo (più che sia possibile recente) e si distende coll'ago di platino su piatte di agar-albumosa (V. pag. 255) descrivendo una serie di giri a elica che dal margine dell'agar terminino al centro della stessa: dopo 5-6 ore a 37° i bacilli si moltiplicherebbero, sicchè facendo preparati a impronta dai fiocchetti di muco sparsi sull'agar, dopo 24-48 ore si potrebbero trovare i germi che con altri procedimenti rimangono invisibili.

b) di *Giocelli* — si versa in una capsula di Petri la parte liquida dell'albuma di un uovo, che si rompe dopo averne sterilizzata la superficie esterna, e in esso si seminano i fiocchetti di muco. Dopo 1-2 giorni a 37° si fanno i preparati.

*La prova biologica* si fa inoculando in cavie il materiale sospeso di contenere i bacilli, previo uno qualunque dei trattamenti che possono servire a rintracciare nel materiale da inocularsi il maggior numero di germi (centrifugazione ecc.).

L'innesto si può fare nel cavo peritoneale, specie se si è sicuri che oltre al bacillo di Koch non si trovino altri germi che possano condurre a morte troppo presto gli animali. Dopo 20-25 giorni dall'innesto si uccidono e si guarda lo stato dell'epiploon, della milza, del peritoneo, del fegato. Generalmente l'epiploon è accartocciato, ispessito, pieno di tubercoli; la milza ha delle dimensioni enormi ed è zeppa anche essa di tubercoli, dura, secca. Esaminando al microscopio il contenuto di essi si trovano i bacilli. Se non si ha fretta, si può lasciare morire l'animale, ciò che accade spesso solo dopo molti mesi (5-6). Le lesioni si trovano lo stesso, anzi maggiori: però molti focolai caseificati non presentano più bacilli dimostrabili coll'esame microscopico.

Quando poi il materiale da inocularsi si sospetti contenere altri batteri che possano in breve tempo condurre le cavie a morte, è meglio (e secondo noi dovrebbe sempre seguirsi questo procedimento) inoculare il materiale sotto cute seguendo il procedimento indicato dall'Abba per la ricerca dei b. della tubercolosi nel latte. « Si sceglie a tal uopo la superficie interna della coscia della cavia e si inocula sotto la cute di essa il materiale: dopo alcuni giorni nel caso dell'esistenza di bacilli tubercolari vivi nel sedimento, si forma nel luogo d'innesto un nodo che tosto si ulcera e da cui geme un po' di pus contenente bacilli tubercolari. Intanto i gangli linfatici inguinali del lato corrispondente all'innesto, si tumefanno e si possono palpare sotto la cute. Mentre si attende l'esito definitivo dell'esperienza, si può asportare un ganglio, sezionarlo (oppure spappolarlo come facciamo noi) e colorarlo.

## II. DIAGNOSI DEI LIQUIDI (pleurici, pericardici, ecc., urina, feci, sangue).

Si può anzitutto esaminare il sedimento di 24-48 ore, avendo cura, nel caso delle feci, di diluirle con acqua distillata e di passarle attraverso un filtro di garza o di fina rete metallica per non avere nel sedimento molti corpi estranei.

In genere però, anche quando i bacilli esistono, i preparati possono riuscire negativi.

Perciò si è pensato di applicare il metodo dell'arricchimento dello sputo in germi, di Hesse, che ad alcuni avrebbe dato buoni risultati.

Migliore di tutti sembra sia il metodo del Jousset.

Se il liquido è spontaneamente coagulabile, si aggiungono ad 1 p. di esso 10-80 cmc. di una miscela di pepsina 1-2 gr., glicerina e  $HCl$  a 22° ana 10 cmc., fluoruro di sodio 3 gr., acqua distillata 1000; e si tiene a 38° per 2-3 ore, agitando ogni tanto.

Quindi si centrifuga e nel deposito si cercano i bacilli della tubercolosi.

Se si tratta di sangue, se ne estraggono 30 gr. e vi si aggiungono 100 cmc. di acq. dist. Il reticolo di fibrina, che si forma per coagulazione, trattiene i germi nel suo spessore: agitando

il coagulo, molto lasso, se ne asportano i globuli sanguigni; i fiocchetti di fibrina che rimangono si trattano con la miscela digerente.

Se il liquido non è spontaneamente coagulabile, si plasmizza: perciò si mescola a parti uguali sangue di cavallo con *NaCl* al 10% e si centrifuga; si raccoglie il plasma che si separa, e 30-40 gr. di esso si aggiungono al liquido in cui si presumono trovarsi i b. della tubercolosi. Si ottiene così un coagulo che si tratta come quello dei materiali spontaneamente coagulabili di cui abbiamo testè parlato. Nel liquido che si ottiene, centrifugato, si ricercano i bacilli della tubercolosi.

Si può anche inoculare il centrifugato dei liquidi nel peritoneo o sottocute alle cavie. Anzi a questa prova giova ricorrere tutte le volte che l'esame microscopico è riuscito negativo. Per facilitare la ricerca si può anche filtrare il liquido attraverso un materiale poroso ed inoculare il deposito. Serve bene all'uopo l'apparecchio per raccogliere il sedimento dell'acqua per l'esame microscopico (V. vol. I, pag. 126).

III. DIAGNOSI NEI TESSUTI. — Si spapolano i noduli tra due portoggetti come se si trattasse di uno sputo e si colorano. Però, ove si volesse anche tenere in considerazione la struttura del nodulo, sarebbe necessario fare delle sezioni e colorarle.

Per mettere in evidenza i bacilli nei tessuti spapolati e nelle sezioni rispondono bene i metodi del Buscalioni e Rondelli, del Lafforgue e del Cimino.

Buscalioni e Rondelli propongono di preparare due soluzioni: l'una di 6 gr. di ipoclorito di calcio in 60 gr. di acqua, l'altra di 12 gr. di carbonato di calcio in 40 gr. di acqua. Questa seconda soluzione si filtra e si unisce alla prima; si filtra di nuovo e si conserva la miscela in bottiglia colorata in bleu, chiusa ermeticamente. Si colora collo Ziehl o col violetto di Ehrlich a caldo per qualche minuto, si lava il vetrino nell'acqua distillata e si tuffa nell'acqua di Javelle, lasciandovelo a contatto fino a che la colorazione rossa o violetta del preparato diventa giallo-bruna. Si lava nuovamente il preparato e lo si esamina in glicerina. L'esame microscopico, se si tratta di sputo, mostra il fondo colorato in giallo, i nuclei delle cellule epiteliali, i corpuscoli del pus ed i microrganismi che ordinariamente si trovano negli sputi intensamente colorati in giallo-bruno; i bacilli tubercolari si mostrano invece intensamente colorati in rosso od in violetto, a seconda della soluzione colorante impiegata. Se si tratta di tessuti, le cellule si colorano in giallo-bruno, i bacilli in rosso od in violetto.

Il Lafforgue, per la colorazione dei bacilli negli sputi, colora con lo Ziehl per 30' a caldo, poi fa agire sul vetrino essiccato e colorato (levando l'eccesso di colore senza passarlo in acqua) una soluzione di acido tartarico o citrico 1:10 per circa mezzo minuto, fino a che si ha colore roseo. Quindi lava in alcool, poi abbondantemente in acqua, e colora il fondo con bleu di metilene. Secondo l'A., l'acido tartarico ed il citrico escludono il pericolo di eccedere nella decolorazione. Volendo poi dimostrare i bacilli in sezioni, la colorazione si fa durare un minuto, e la decolorazione si fa con una soluzione acida 1:5 alternando con alcool assoluto fino ad ottenere un colore roseo.

Secondo Cimino le sezioni dello spessore di 7  $\mu$ . vengono distese in acqua distillata a bagnomaria, passate su vetrini rigorosamente sgrassati, e lasciate quindi per 1 ora nel termostato a 40°, o per 24 ore all'aria, riparate dalla polvere. Così esse restano saldamente incollate al coprogetti. Si spazzano poi, così incollate, in trementina e si passano in alcool assoluto.

Si lasciano cadere poche gocce di fucsina di Ziehl sul preparato, che vien riscaldato alla fiamma fino a svolgimento di vapori, seguitando a scaldare per uno o due minuti; si lava abbondantemente in acqua, si immerge il preparato per 4 minuti in una miscela a parti eguali di acido nitrico al 10 % e di ematosilina; si ripete di nuovo il lavaggio abbondante in acqua semplice, e l'immersione nella stessa per cinque minuti almeno. Le sezioni, tratte dalla miscela di acido nitrico e di ematosilina con colorito giallognolo, perdono nell'acqua questo colore ed assumono man mano una tinta violacea. Si passa poi il preparato in una tenue soluzione di carbonato di litina, e con questo trattamento i tagli diventano azzurri.

Si fa seguire la disidratazione nella serie degli alcool a 70°, 90°, ed assoluto, il rischiaramento in xilolo e la montatura del preparato in balsamo.

Questo metodo rivela nettamente i bacilli e dà ai tessuti una colorazione molto nitida.

#### IV. DIAGNOSI DIFFERENZIALE TRA I VARI BACILLI DELLA TUBERCOLOSI.

##### 1° per mezzo di preparati colorati.

Si può soltanto sino a un certo punto, col metodo del Martzinsky, tentare di differenziare il *b. della tubercolosi aviaria* da quello *della tubercolosi umana*.

Perciò una volta dimostrati dei bacilli che si colorano col metodo Ziehl-Neelsen o Koch-Ehrlich, si fanno altri preparati, che si immergono in una soluzione fatta con 1 p. di liquido di Ziehl e 2 p. di acqua distillata. Vi si tengono per 3-8 minuti, indi si lava con acqua e si colora col blen di Löffler, si lava, si secca e si monta. Secondo l'A. il *b. della tubercolosi dei mammiferi* rinarrebbe scolorato, quello della tubercolosi aviaria assumerebbe una tinta rossa.

##### 2° per mezzo di colture.

Approfittando della più facile coltivabilità del *b. della tubercolosi aviaria*, di fronte a quello del *b. della tubercolosi umana*, si può tentare con qualche fiocchetto di mucro di fare delle colture in piatte, col metodo dell'Hesse; però è questo un procedimento che non sempre riesce, specie perchè altri germi che si trovano insieme ai *b. della tubercolosi* si sviluppano e rendono le colture impure. È meglio quindi cercare di giungere ad una diagnosi differenziale.

##### 3° per mezzo delle inoculazioni negli animali.

A tal uopo si inoculano delle cavie nel sottocutaneo della coscia; dopo 5-8 giorni si estirpano le ghiandole, si trituranò in un mortaio sterilizzato

e si inocula l'emulsione in un piccione: il b. della tubercolosi aviaria si sviluppa; quello della tubercolosi umana no. Naturalmente i risultati che offre questo procedimento vanno anche essi presi col beneficio dell'inventario.

V. DIAGNOSI DIFFERENZIALE COI BACILLI DELLA PSEUDO-TUBERCOLOSI. — In vari animali sono state descritte lesioni pseudo-tubercolari, in cui sono stati riscontrati i più diversi germi dai cocchi ai bacilli, ai filamenti anche ramificati, articolati, ecc.

Alcuni di questi germi si colorano col metodo Ziehl-Neelsen e col metodo del Gram, ed altri nè coll'uno nè coll'altro. Alcuni si sviluppano bene nei comuni terreni di nutrizione ed altri no, come ancora alcuni uccidono gli animali con forme setticemiche, ed altri invece producono lesioni che si avvicinano di più a quelle prodotte dal b. della tubercolosi.

Che si tratti di un solo germe, come vorrebbe qualche autore, non è possibile ammettere, perchè si sa oramai che le lesioni anatomo-patologiche non sono prove sufficienti per stabilirlo, dacchè è stato dimostrato dal Carini che con molti batteri si può produrre il tubercolo sperimentale.

La diagnosi differenziale deve quindi limitarsi a differenziare il b. della tubercolosi da quei germi capaci di produrre una pseudotubercolosi, i quali si colorano col metodo dello Ziehl-Neelsen.

Ora il germe che più facilmente può trovarsi accanto al b. della tubercolosi, specialmente nel latte, nelle feci, nell'orina è un bacillo che si può benissimo riportare a quello isolato dalla Rabinowitsch e dal Petri dal latte e dal burro, e poi da altri, e studiato dal Carnevali che ne ha dato i segmenti

#### CARATTERI MORFOLOGICI.

Nelle colture in mezzo liquido, specialmente nel deposito al fondo del tubo, il microrganismo ha la forma di un bacillo abbastanza lungo e grosso, coi poli intensamente colorabili; uno di questi è anche un po' ingrossato. Se le colture sono vecchie, il contenuto di questi microrganismi può essere frammentato, ed i singoli frammenti assumono più intensamente la colorazione. Nelle pellicole superficiali delle colture in brodo e nelle patine su agar a becco di flauto, primeggiano le forme corte a cocco-batterio. Le forme bacillari abbondano invece nelle colture su patate.

È immobile.

Assume facilmente i colori d'anilina. Resiste al Gram. Si colora col metodo di Koch-Erlich e di Ziehl-Neelsen.

#### CARATTERI CULTURALI.

*In gelatina a piatto.* — Colonie superficiali rotondeggianti, a capocchia di spillo, biancastre. Il loro centro, visto ad un certo ingrandimento, è più scuro della loro periferia. Da esso sembra che si dipartano una serie di filamenti, che si dirigono fino ai bordi della colonia. Questi bordi sono lievemente ondulati.

*In gelatina per infusione.* — Non si sviluppa, o quasi, lungo la linea di innesto. In superficie forma una patina biancastra.

*Su agar a becco di flauto.* — Patina spessa, che si estende su tutto il terreno di nutrizione, umida prima, poi secca; invecchiando assume una colorazione giallognola.

*Su patate.* — Patina dapprima bianco-grigiastria, più tardi bianco-giallastria; umida prima poi secca, a margini lobati.

*In brodo.* — Non intorbida il brodo; forma una pellicola in superficie che rimonta lungo le pareti del tubo, costituita da isolotti biancastri, sottili, secchi, confluenti; forma deposito polveroso al fondo, abbondante; toccato coll'ago di platino, appare poltiglioso. Scuotendo il tubo, la pellicola si frammenta, ed i singoli frammenti vanno al fondo.

*In latte.* — Si sviluppa senza coagularlo e formando una pellicola in superficie.

#### CARATTERI BIOLOGICI.

Invecchiando, la coltura produce un pigmento giallastro che tende all'aranciato. Questo pigmento si produce prima nei substrati solidi che nei liquidi; in alcuni di questi si forma soltanto tardi; è quanto avviene nell'albuminato alcalino del Casagrandi.

Non fluidifica la gelatina.

Non inverte il saccarosio in glucosio, non trasforma l'amido in zucchero, non coagula il latte, non decompone l'amigdalina. La reazione dell'indolo è negativa; non produce gas.

Esso, inoculato nel peritoneo di cavie, produce noduli miliari in corrispondenza della milza, del fegato, e talora del peritoneo; da questi noduli si può coltivare il bacillo, purché provenga da passaggi da animale ad animale; in ogni caso i focoli specifici inoculati non ripetono lo stesso fatto patologico locale.

Quindi questo germe si può differenziare dal *b.* della tubercolosi per la sua forma, per la sua facile coltivabilità e per la sua azione patogena verso gli animali.

VI. DIAGNOSI DIFFERENZIALE COI COSÌ DETTI BACILLI DELLO SMEGMA. — Questi si trovano sul prepuzio, nel perineo, nelle pieghe anali, sul clitoride e raramente nella bocca (*V. b.* della lepra, pag. 345).

Per la diagnosi differenziale si consiglia servirsi del metodo di Pappenheim (*V. b.* della lepra); ma per usare questo metodo bisogna prima avere il sospetto che si trovino nel materiale in esame; è meglio quindi fare prima un preparato col metodo di Koch-Ehrlich, usando l'acido nitrico, come è prescritto, al 33  $\frac{0}{10}$  come decolorante, col quale procedimento è ben difficile che qualche bacillo dello smegma rimanga colorato. Del resto il trattamento ulteriore con alcool li scolora.

In ogni caso si può adoperare il metodo del Dorset. Questi tiene i preparati per 5 minuti in una soluzione alcoolica all'8  $\frac{0}{10}$  di Sudan III e poi li lava in alcool a 70°. Il Sudan III colora i bacilli della tubercolosi soltanto; gli altri rimangono scolorati.

Infine, si potrebbe ricorrere alla prova sierodiagnostica, la quale può servire anche per la diagnosi differenziale coi pseudotubercolari.

Per lo scopo si consiglia di servirsi del siero di individui tubercolosi o di quello di animali inoculati con bacilli morti o vivi. Questi sieri determinano la precipitazione dei bacilli della tubercolosi dalle emulsioni in rapporti superiori a 1:10 (secondo alcuni sino a 1:20), mentre non precipitano affatto quelli della pseudotubercolosi. È però questa una prova che meriterebbe maggiori controlli per poterci fondare con sicurezza sulla sua specificità.

## B. della lepra.

I bacilli della lepra sono germi sottili, forse un po' più lunghi e più grossi di quelli della tubercolosi, colorabili omogeneamente coi comuni colori di anilina, ad estremità un po' rigonfie; secondo alcuni leggermente mobili, secondo i più immobili; resistenti al Gram, ma meno resistenti agli acidi del b. della tubercolosi, in quanto che colorati non si scolorano se non quando la soluzione acida sia debole. Essi si coltivano difficilmente, tanto che si discute ancora se veramente lo siano stati.

Indubbiamente però alcuni autori hanno isolato dai lepromi un bacillo non trapiantabile in agar glicerinato o in siero umano nè su patate glicerate neutralizzate, il quale risponde ai caratteri morfologici del b. della lepra.

Il Cantani avrebbe veduto che esso si sviluppa bene nel brodo di pesce, che rende viscoso-filante: quivi formerebbe colonie rotondegianti a margini frastagliati e ad aspetto reticolato. Pare anche che si sviluppi nel terreno di Thalmann (V. pag. 255).

In ogni caso però il germe coltivato non ha riprodotto mai dei lepromi.

*La identificazione del b. della lepra* si può dire fondata solo sull'esame microscopico.

Nei linfomi essi si trovano entro le cellule linfatiche e fuori: si tratta di bacilli che si colorano come i bacilli della tubercolosi col metodo di Ziehl-Neelsen e col metodo di Koch-Ehrlich, purchè invece dell'acido nitrico al 33 % si adoperi quello al 10 %. Questi bacilli coltivati, secondo Spronch, verrebbero agglutinati dal siero dei leprosi nella proporzione di 1 di siero a 60 di coltura.

*Per differenziarli dai bacilli della tubercolosi* si può adoperare il metodo del Baumgarten, fondato sul principio che i bacilli della lepra acquistano più facilmente le soluzioni coloranti, di quel che non faccia il b. della tubercolosi.

Si pongono i preparati seccati, e fissati, per 6-7 minuti, in un vetrino da orologio in cui si è posta dell'acqua distillata con aggiunta di 5-6 gocce di una soluzione alcoolica di fucsina.

Si passano per 15 secondi in alcool nitrico (1 di acido nitrico e 10 di alcool); si lavano in acqua e si passano in sol. acq. di blen di metilene. Si colorano così in rosso i b. della lepra e rimangono scolorati quelli della tubercolosi.

In ogni caso si può ricorrere alla prova negli animali: si inocula una cavia sotto la cute della coscia o nel peritoneo. Non essendo il b. della lepra



patogeno per questi animali, non si avrà alcuna lesione: l'altro invece produrrà i soliti tubercoli.

*Per la diagnosi differenziale coi bacilli dello smegma, siccome molti ritengono che i bacilli della lepra sinora coltivati non siano che bacilli dello smegma, i quali sono ugualmente non patogeni, ed hanno caratteri analoghi, parrebbe non ci fossero dati differenziali.*

In questi ultimi tempi però si sono isolati vari di questi germi e si è veduto, che ancora meno del b. della lepra resistono, se colorati, alla decolorazione con gli acidi, tanto che, per non scolorarli, si consiglia di passare i preparati solo in alcool.

Essi si possono oramai ridurre ai tre tipi: Möller, Czaplewski, Lustgarten, i quali, oltre che per la forma ed il modo di comportarsi verso gli acidi, si differenziano pel modo di svilupparsi nei commi terreni glicerinati: il tipo Möller dà un pigmento rosso, il tipo Czaplewski un pigmento giallo, il tipo Lustgarten non dà pigmento di sorta.

Si usa di solito il metodo di Pappenheim, che serve anche a differenziarli da quelli della tubercolosi.

Si colora il materiale a caldo per 2 minuti con fucsina carbolica, si sgocciola via l'eccesso di colore, si immerge il vetrino per 3-5 volte in una soluzione di corallina e bleu di metilene (corallina 1, alcool 100, bleu di metilene sino a saturazione, glicerina 20) si lava in acqua, si essicca, si monta.

I bacilli della tubercolosi e pare anche quella della lepra rimangono colorati in rosso: in ogni caso quelli dello smegma rimangono colorati in bleu.

Si consiglia anche di usare il metodo di Martzinowski (V, pag 341) col quale si colorano in bleu, mentre quelli della tubercolosi rimangono scolorati e quelli della lepra prima assumono un colore rosso e poi si scolorano.

Vi sono anche altri procedimenti, ma uno vale l'altro e perciò è inutile riferirli.

## CAP. V.

### CORINEBATTERI.

In questo gruppo si possono comprendere il b. della difterite, i pseudodifterici, i b. delle xerosi, ecc.

Esso è rappresentato da esseri che, come dicono Lehmann e Nenmann, formano colture aventi il carattere di vere colture batteriche, molli, espause e poco aderenti. Microscopicamente sono dei bastoncelli con estremità rigonfiate a clava: in alcune colture presentano una vera ed evidente divisione dicotoma.

## B. della differite.

Questo germe si ramoda alle streptothrix, perchè in speciali condizioni di vita è capace di ramificarsi, ed i rami terminali si rigonfiano a clava e si presentano come articolati, perchè il loro contenuto si raccoglie in punti più densi, i quali però non si devono interpretare come spore.

La trasformazione della forma bacillare in quella ramificata si può dimostrare coltivando il bacillo su substrati minerali che imbevano dischi di caolino, oppure in colture vecchie in brodo glucosato all' 1 ‰. Pare anche che la streptothrix la quale rappresenta il b. della differite in vita libera sia una *streptothrix cromogena citrina* (Casagrandi). Infatti vi sono b. differici che coltivati prima su substrati minerali e poi sugli ordinari terreni di coltura, formano patine gialle, e tendono a ramificarsi: uno di questi bacilli è stato isolato dal Concetti.

### Caratteri morfologici.

Il b. della differite si presenta di solito come un bastoncino piuttosto lungo, quasi mai diritto, spesso ricurvo, con un estremo slargato o clavato (fig. 170); secondo Escherich si troverebbero

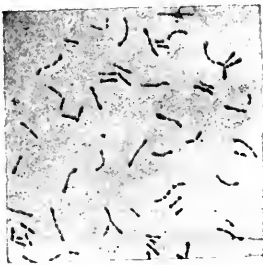


fig. 170.



fig. 171.

germi curvi, a cilindro allungato, clavati, a cono, cui oramai bisogna aggiungere anche le forme ramificate. Si trova generalmente a gruppetti di 2-3 perchè un germe si dispone accanto l'altro parallelamente e ad angolo (fig. 171). È immobile e resiste al Gram. Il suo contenuto non è omogeneo.

Secondo il Martin si potrebbero distinguere tre varietà di bacilli: 1) uniformemente colorabili, disposti per lo più parallelamente; 2) grossi, lunghi, spesso clavati, con 2-3 punti intermedi

scolorati, intrecciati variamente tra di loro: 3) di media grandezza, quasi forme di passaggio tra le due forme sopra descritte.

Non è sporigeno: i corpi speciali, colorantisi col metodo del Fedorowitsch (metodo del Gram in cui alla decolorazione coll'alcool è sostituita quella coll'olio di anilina diluito a parti uguali con xilolo), e dall'autore chiamati protospore, sembra non siano che accenuli di sostanze albuminoidee (Grimme).

### Caratteri colturali.

Si coltiva in tutti i substrati: però preferisce i terreni glicerinati o anche quelli in cui ci siano dei sali minerali (urina per esempio).

*In agar a piatto* (in gelatina non sempre se ne ha lo sviluppo) colonie prima di aspetto rugiadoso (come quelle dello streptococco, del diplococco, dell'influenza, del mal rosso dei suini, di molti dei germi delle setticemie emorragiche): coll'andar del tempo però i bordi si appiattiscono, e visti a luce traversa si vedono lievemente ondulati e pianeggianti, mentre il centro si solleva alquanto, per cui le colonie paiono nucleate: allora esse assumono un aspetto bianchiccio e diventano opache (fig. 172).

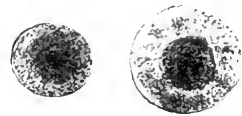


fig. 172.

*In agar per infissione* (in gelatina non sempre si sviluppa) si forma un nastrino sottile, appena visibile e in superficie un velo sottile, traslucido, circoscritto, a bordi ondulati, che col tempo diventa bianco sudicio.

*Su agar a becco di flauto* raramente forma una patina continua: per lo più i singoli bacilli danno luogo a colonie (che risultano dalla moltiplicazione di un gruppo di bacilli), prima rugiadiformi, cerulee, a bordi piani e a nucleo rilevato. Da prima sono grandi meno di una testa di spillo, poi sorpassano questa grandezza, e allora il nucleo diviene ben visibile, e fra esso e la periferia spesso si nota un cerchio più chiaro (fig. 173).

*Sul siero* dopo 12-16 ore a 37° forma colonie grigiastre che guardate per trasparenza mostrano il centro nucleato. Il siero non è fluidificato.

*Su patate* lo sviluppo è scarso e si nota per lo più solo dopo la seconda settimana, sotto forma di un velo sottile senza caratteri speciali: bisogna anche che la patata abbia reazione alealina.



fig. 173.

*In brodo*, secondo alcuni osservatori, si svilupperebbe intorbidandolo, ma per quanto mi consta la maggioranza dei bacilli difterici lo lascia limpido. Certo però si formano piccoli grumi che si raccolgono al fondo o rimangono sospesi: raramente si forma un velo ceruleo in superficie.

*In latte* si sviluppa senza coagularlo.

### Caratteri biologici.

Il b. difterico possiede l'enzima diastatico e l'inverso. Attacca specialmente il glucosio (infatti dopo 48 h. i brodi alcalini divengono di reazione acida).

Produce una tossina la quale si distrugge a 65° al calore umido e a 120° al calore secco, come anche cogli acidi e cogli alcali.

Iniettata per la via sottocutanea, nel punto di inoculazione si produce una chiazza emorragica: poi si nota un leggero ingorgo e arrossamento delle ghiandole surrenali e iperemia del tenue; generalmente l'animale muore con paralisi degli arti. La minima dose mortale è rappresentata da frazioni di cgr. e persino di mgr.

La costituzione chimica della tossina difterica è ancora ignota: secondo l'Ehrlich consisterebbe di due parti, una non tossica (parte *aptofora*), e una tossica (parte *tossofora*): essa non conserva un grado di tossicità costante, e si trasforma in gran parte, in atossica o *tossoide*.

Indipendentemente dalla vera tossina poi nelle colture in brodo si produce una sostanza non tossica corrispondente alla stomosina di Centanni, detta tossone da Ehrlich, analoga all'enzima batteriolitico dell'Emmerich e Löw: la quale forse è causa delle paralisi difteriche postume.

### Diagnosi.

Per la diagnosi batteriologica della difterite occorre procedere:

- 1° alla prelevazione del materiale,
- 2° all'allestimento del preparato microscopico.
- 3° all'innesto del materiale in terreno colturale adatto e al successivo allestimento di preparati microscopici dalla cultura.

*Prelevazione del materiale.* — Il metodo più alla mano e più pratico è quello di raccogliere il materiale con un tampone di cotone avvolto attorno ad una bacchetta di legno, di vetro, o meglio di metallo, precedentemente sterilizzata dentro una comune provetta (fig. 174). Questo tampone si estrae dalla pro-

vetta stessa al letto dell'ammalato, lo si strofina sul punto leso, lo si ripone dentro la provetta e si riporta così in laboratorio.

*Allestimento del preparato microscopico.* — Il preparato microscopico si allestisce per arrotolamento, ossia, estratto il tampone dall'astuccio di vetro, lo si arrotola sopra un vetro coproggetti comprimendovelo leggermente. Si lascia seccare il materiale, si fissa passando tre volte alla fiamma, vi si versano sopra alcune gocce di una soluzione idro-alcoolica di bleu di metilene o di bleu di Loeffler o di fucsina carbolica diluita all' 1 su 10; si riscalda sino ai primi vapori, si lava, si secca e si osserva.

Si devono notare, dato che si tratti di difterite, dei microrganismi a forma di bastoncino riuniti a gruppetti, con un estremo generalmente un po' più grosso, a contenuto non sempre omogeneamente colorato.

Per giungere ad una diagnosi esatta occorre mettere in evidenza i granuli polari.

All'nopo, tra tutti i metodi, quello da preferirsi è il metodo del Neisser (V. pag. 225) perchè (De Nigris):

a) mette in evidenza il maggior numero dei granuli polari sia nei batteri delle colture, sia in quelli delle false membrane;

b) non dà mai una colorazione in toto che ostacoli il differenziamento dei granuli del microrganismo.

Esso inoltre si può ritenere un metodo di diagnosi differenziale:

a) tra forme difteriche tipiche e forme difteriche a tipo attinomicotico, ove si tenga conto della durata d'azione della soluzione, necessaria per mettere in evidenza i granuli polari, (soluzione A 25"-35", soluzione B 40"-45" per il bacillo di Löffler; soluzione A 50"-60", soluzione B 1'2' per il bacillo difterico del Concetti);

b) tra forme difteriche e pseudodifteriche, ove dopo ottenuta la colorazione seguendo le indicazioni normali si proceda alla colorazione, facendo agire la soluzione A per un tempo più lungo. In tal caso, mentre i bacilli difterici presentano i granuli polari ben differenziati dal corpo bacillare, i pseudodifterici non presentano più tale colorazione netta, ma tutto il corpo bacillare assume la prima colorazione.

*Innesto del materiale in terreni colturali adatti* — Non sempre con il semplice esame microscopico si riesce a fare la diagnosi di difterite. Nei casi negativi special-

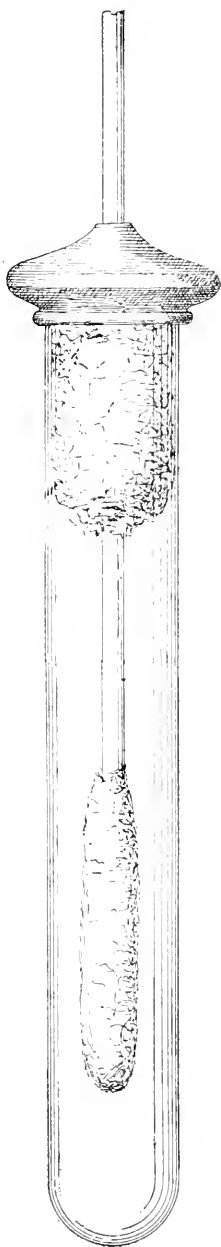


fig. 174.

mente bisogna ricorrere a procedimenti colturali. Nei laboratori si ha sempre a disposizione dell'agar glicerinato, che serve benissimo: all'uopo lo si fonde, si versa in scatola di Petri (o sopra dei vetri portoggetti, che si collocano poi in scatole Petri, sopra un foglietto di carta bibula), si lascia solidificare e vi si arrotola sopra il batuffolo sporcato del materiale sospeso. Si pone nel



fig. 175.

termostato la scatola alla temperatura di 35°-37° e dopo un certo numero di ore (7-12) si adagia sul materiale nutritivo un vetrino coproggetti nei punti strisciati, nei quali generalmente si sono sviluppate una serie di colonie staccate (fig. 175), e con il medesimo si fa un preparato ad impronta, colorando con il procedimento di Neisser.

Nella pratica giornaliera è utile il metodo del Valagussa. Questo consiste nel servirsi, nella prelevazione del materiale, di batuffoli di cotone impregnati di terreno di nutrizione solido, che può essere l'agar glicerinato o il terreno Schloffer (V. pag. 255).

I tamponi sporcati del materiale si mettono in termostato a 35°-37° (non avendo questo, entro apposita tasca nell'interno del panciotto) vi si tengono per 3-4 ore, poi si estraggono e si arrotolano su vetrini portoggetti, che si fissano e si colorano nel modo indicato.

Infine nella pratica ordinaria, specie quando ci si trova lontani dai laboratori, si può procedere all'esame batteriologico della difterite con un metodo assai semplice, che ho avuto occasione di controllare più volte.

All'uopo si prepara da un canto un terreno di nutrizione semplicissimo di urina al peptone o alla glicerina (V. pag. 255) e dall'altro dei batuffoli di cotone idrofilo montati sopra una bacchetta di vetro o di legno, i quali si immergono in albumina d'uovo diluita a metà con acqua distillata. Quando se ne sono imbevuti, si collocano entro provette vuote, senza farli aderire alla parete, per mezzo di cotone che si applica all'apertura della provetta, attraverso il quale si fa passare la bacchetta di vetro. Si sterilizzano quindi al vapore d'acqua a 100° come il terreno liquido suindicato. L'albumina così coagula e trasforma il tampone in un pezzo cilindrico solido bianco. Al letto dell'ammalato si portano almeno due tamponi così preparati, e si sporcano nella gola dell'individuo sospetto difterico. Con uno di questi tamponi si procede all'allestimento del preparato microscopico nel modo indicato; l'altro invece s'introduce entro ad un tubo contenente il liquido di nutrizione, sbatteendolo alquanto. Indi si solleva al di sopra della superficie del liquido, in modo da toglierli qualunque contatto con il liquido stesso e lo si tiene sospeso entro la provetta, trattenendolo con un batuffolo di cotone applicato all'orificio della provetta, attraverso il quale si fa passare la bacchetta di vetro. Questa provetta contenente quindi il tampone sporco inumidito con

il liquido di nutrizione, si mette in termostato. Dopo 6-8 ore si estrae il tampone e con lo stesso si fanno dei preparati per arrotolamento su portoggetti; e se da questi si ha risultato negativo, dopo 12 ore si fanno dei preparati dal liquido di nutrizione.

Per la diagnosi differenziale tra il b. della difterite ed altri germi simili, avendo questi già isolati e coltivati, occorre procedere anche ad altre ricerche che non sono semplicemente degli esami microscopici.

Per la diagnosi tra il b. della difterite, i pseudodifterici, i b. della xerosi ed i bacilli simili al bacillo difterico isolati da altre infezioni è utile tener presente che il b. difterico è tossico, e quindi dopo aver fatto delle brodocolture che si tengono in termostato 2 settimane, si filtrano allo Chamberland e si inocula il filtrato (5-10 emc. a una cavia sotto la cute del torace), per vedere se uccide gli animali in 4 giorni al massimo, nel qual caso si tratta di b. difterico.

Si può anche ricorrere alla prova sierodiagnostica in vitro. A tal uopo si inoculano animali col b. difterico, e prima che essi muoiano si salassano o il loro siero si fa agire su brodocolture intorbide del bacillo (tali brodocolture si ottengono sbattendole ripetutamente in termostato e usando a preferenza il brodo di carne al 2% di peptone a al 6% di glicerina).

Secondo Santori il siero normale delle cavie agglutina il b. della difterite solo nella proporzione di 1 a 10, quello delle cavie infette sino a 1 : 30.

In ogni caso, se i germi non sono tossici e non si agglutinano, per la loro identificazione occorre tener presenti i loro caratteri morfologici e culturali e la loro provenienza.

Il *b. PSEUDODIFTERICO* è un po' più corto e più grosso; ricorda piuttosto le forme cuneate dell'Escherich e quelle coliche, inoltre non sempre si dispone a gruppetti: in coltura, se in primo tempo si sviluppa come il b. difterico, è poi minore la tendenza alla nucleazione della colonia, che ha contorni regolari. Esso uccide gli animali per setticemia, producendo talvolta granulomi. Va però notato che alcuni negano la esistenza di un gruppo di pseudodifterici, ammettendo, come il Piorkowski, che que' di non rappresentino altro che individui meno virulenti della stessa specie del b. di Löffler.

In un recente lavoro del Lesieur la questione è stata molto bene studiata e l'autore ha potuto notare che realmente esistono dei germi simili al bacillo della difterite dal quale si differenziano per la loro innocuità verso le cavie. Però atteso il fatto che ad alcuni di essi gli fu possibile fare acquistare virulenza, li considera come difterici attenuati, lasciando impregiudicata la questione in rapporto agli altri.

IL *b. DELLA XEROSI* è morfologicamente identico al bacillo della difterite; però non è tossico per gli animali. Esso si trova sulla congiuntiva affetta da xerosi: varie ne sono le forme descritte, ma forse si tratta di un solo germe.

Altri batteri, trovati in diverse affezioni, come il *renalis boris* (isolato da una pielonefrite) e il *b. pseudotuberculosis murium et oris*, hanno analogia col b. della difterite, ma non vanno confusi con esso.

Pare invece identico col b. della difterite un bacillo che è causa di quella forma di difterite degli uccelli, che è trasmissibile all'uomo, da non confondersi col *b. diptheriae columbarum*, che si riporta al gruppo del *b. coli*.

Identico è pure morfologicamente un germe che produce epatizzazione dei polmoni dei ratti, iperemie della milza del fegato e morte dell'animale. Esso

si differenzia dal b. difterico perchè è patogeno per i ratti per i quali il b. difterico tipico non lo è. Del resto non è stato descritto nella flora boccale dell'uomo: esso si chiama *b. muris*.

Infine, giova ricordare che quando si fa la ricerca dei b. difterici da materiali di sospetti difterici e ci si attiene al solo metodo di Neisser, può accadere di trovare colorati dei granuli polari in germi che non sono nè difterici nè pseudodifterici.

Già dallo stesso lavoro del Neisser risulta che alcuni germi assolutamente differenti dal bacillo della difterite posseggono dei granuli, nel loro contenuto, che assumono la colorazione medesima, come p. es. il bacillo del tifo. Da lavori di altri autori risulta che vi sono germi sempre del pari molto diversi da quelli difterici, i quali possono assumere la medesima colorazione, per esempio alcuni cocchi, secondo il Valagussa.

Tra questi germi il più importante è il così detto *ribrio lingualis*. Questo si può trovare nella bocca dei sani e dei difterici sotto forma di bacilli sottili, con terminazioni a clava, spesso leggermente curvi con granuli polari molto bene colorabili col metodo del Neisser (fig. 176).

Secondo il Bajardi, esso non è che una streptothrix, e per questo accanto alle forme a bastoncino se ne trovano anche molte ad Y.

Per differenziarlo dal b. difterico, ove nasca il sospetto della sua presenza, si può colorare il materiale col metodo del *Crouch* o del *Bronstein*, coi quali i granuli di esso non si colorano.

Secondo *Crouch*, si colora per 1-2 secondi nella soluzione seguente: Verde di metile 1% p. 5, Dahlia 1% p. 1, Acqua distillata p. 4. Il corpo dei bacilli appare verde chiaro e i granuli rossastri.

Secondo *Bronstein*, si colora per  $\frac{1}{2}$  minuto nella soluzione seguente: Violetto di Dahlia 1, Alcool a 90° 10, Acido acetico 50, Acqua distillata 90. Poscia per un tempo più lungo in Vesuvina al 2%, i granuli appaiono bruni e il corpo del bacillo giallo.

È però molto meglio procedere a delle semine a piatto in agar. Dopo 12 ore a 37° si osservano nello spessore del substrato delle colonie che, viste all'ingrandimento di 60 diametri, si presentano rotondegianti, fortemente granulose, non nucleate, di colorito giallastro e a bordi ramosi (fig. 177), quindi assolutamente diverse da quelle del bacillo difterico.

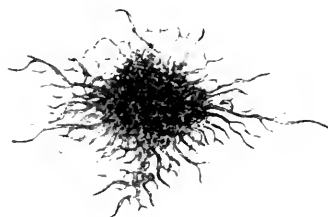


fig. 177.



## CAP. VI.

## SCIFOBATTERI.

Come il Lehmann e il Neumann stabiliscono i due gruppi dei mico e dei corinebatteri, così io credo opportuno di collocare il *b. della morva* in un nuovo gruppo (avente relazioni con le streptothrix) che chiamerei dei *scifobatteri*. In questo gruppo troverebbe posto anche il *b. della peste*, che per alcuni avrebbe del pari relazioni con le streptothrix.

Si tratta di germi che formano patine molli e poco rilevate sul terreno nutritivo, e, microscopicamente, bastoncelli vacuolati o a navicella, che nelle condizioni ordinarie di coltura non presentano mai divisi e dicotomicamente (nel che differiscono dai corinebatteri).

I. — *B. della morva.*

Il *b. della morva* in questi ultimi tempi si è rammodato al gruppo delle streptothrix (Conradi) perchè si dispone in filamenti, si rigonfia a clava e ramifica.

Tali fatti sono stati osservati nei tessuti e nelle colture. Si ottiene una tipica ramificazione nelle colture su blocchetti di caolino imbevuti di soluzioni minerali (Casagrandi).

**Caratteri microscopici.**

Sono bacilli corti e tozzi nei quali il citoplasma si ammassa ai due estremi o in vari punti del corpo batterico (fig. 178).

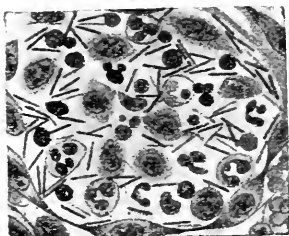


fig. 178.

colorabili con le comuni soluzioni coloranti, per lo più immobili, generalmente non resistenti al Gram (salvo non si sostituisca l'olio

di anilina all'alcool e non si faccia la colorazione di contrasto); sono anaerobi facoltativi, coltivabili in tutti i terreni.

### Caratteri culturali.

*In gelatina a piatto* forma colonie bianco-sporche giallicce, specialmente nel centro, non molto rilevate, a bordi irregolari, con una leggiera lobatura e come solcate nella superficie.

*In gelatina per infissione* si sviluppa formando una patina sottile, grigia, uniforme, umida, a bordi sinuosi o dentellati: lungo l'infissione si forma un nastrino spesse volte interrotto a corona di rosario.

*Su agar a becco di flauto* forma una patina bianco-sporca, un po' diffusa dalla linea di innesto, umida, poltacea, senza caratteri speciali (come il *b. coli*).

*Su patate* forma una patina (fig. 179) spessa, bianco-sporca, umida, poltacea con tendenza a essere viscosa, grigiastria dapprima,

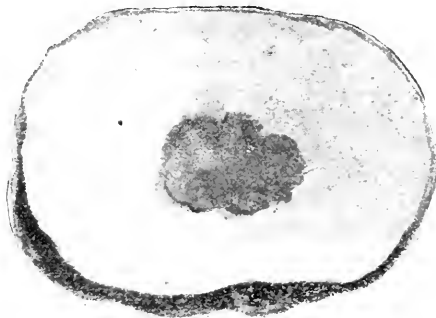


fig. 179.

poi rosso-mattone e dopo lungo tempo giallo-bruna o giallo-rossa.

*In brodo* si sviluppa intorbidandolo lievemente e dà luogo al fondo a una massa un po' melmosa: a lungo andare il brodo diviene limpido.

### Caratteri biologici.

Coagula, ma non sempre, il latte; produce tracce di indolo: non dà gas dagli idrati di carbonio, nè  $H^2 S$ .

Produce non una tossina, ma una proteina (la malleina) che non si può ancora affermare sia una nucleina come quella tubercolare: essa ha un'azione marantica e flogogena.

I topi di campagna e le cavie sono gli animali di laboratorio più recettivi: lo sono meno i conigli, molto lo sono gli asini.

L'inoculazione sottocutanea dà luogo ad ascessi che facilmente si ulcerano e che possono durare a lungo, l'animale potendo rimanere in vita quasi un mese: i gangli prossimiori si ingorgano e presentano molti noduli morvosi.

L'inoculazione di patine batteriche, emulsionate in non meno di 2 emc. di brodo, fatta nel peritoneo di animali maschi (specialmente di cavie) produce la così detta orchite morvosa, la quale serve per la diagnosi di morva col metodo di Strauss.

Dopo 3 giorni i testicoli si tumefanno e s'arrossano: in una settimana circa si può avere anche perforazione delle tuniche testicolari e fuoriuscita di un pus denso icoroso.

Alla sezione si trovano noduli morvosi nella vaginale e nell'interno dei testicoli: i foglietti della vaginale sono uniti da essudato purulento ricchissimo di bacilli.

### Diagnosi.

IDENTIFICAZIONE. — La identificazione di bacillo della morva si fa:

1° coll'inoculare dentro il cavo peritoneale di cavie, o asini maschi, noduli morvosi spappolati, scolo nasale, colture recenti (le vecchie difficilmente sono virulente) per vedere se si produce l'orchite morvosa dopo 3-4 giorni.

E quando questa si è formata, dal pus e dai noduli si fanno preparati col metodo del Gram per vedere se si trovano bacilli che non vi resistono, a contenuto non omogeneamente colorabile, e colture su patate.

Solo nel caso in cui il materiale contenga altri germi, prima di procedere all'inoculazione endoperitoneale, si inocula nel sottocutaneo di una cavia, o si innesta sulla cute scarificata; quindi dopo alcuni giorni, si uccide l'animale, si estirpano i gangli prossimiori, si spappolano e si inoculano nel cavo peritoneale di cavie maschi.

Si possono anche fare preparati colorandoli con metodi speciali (è inutile fare sezioni): serve bene allo scopo il metodo di Löffler: si colora in liquido di Löffler al bleu di metilene o al violetto di genziana per 5 minuti, si lava bene in acido acetico 1% colorato in giallo con alcune gocce di una soluzione acquosa di tropeolina 00, si rilava in acqua, si secca e si monta. Sul fondo giallo devono spiccare i bacilli bleu o violetti;

2° per mezzo della prova colla malleina.

Gli animali, e per questo si preferiscono gli asini, vengono inoculati con il materiale morvoso, dopo esser stati tenuti in osservazione per 2-3 giorni, durante i quali si prende varie volte la temperatura del retto per stabilirne la media normale. Quindi sotto la cute della regione cervicale laterale, si

iniettano cmc. 2,5 di una soluzione di malleina al decimo in acqua fenicata al 5 %.

Dopo 6 ore si prende la temperatura e si ripete la prova, ogni 2 ore, per circa 20 ore. Se l'animale è affetto da morva la temperatura si eleva di 1°.5.

### 3° per mezzo della sieroreazione.

Con questo mezzo si potrebbe tentare di identificare il bacillo della morva ma mancano ancora ricerche sul normale potere agglutinante dei sieri dei piccoli animali dilaboratorio, e d'altro canto si sa che gli animali non morvosi ma inoculati di malleina posseggono un siero, che può agglutinare i bacilli morvosi come o il doppio di quello degli animali in preda all'infezione (il siero di cavallo sano agglutina nella proporzione di 1:300-500, il morvoso in quelle di 1:500-1:1000, il malleinato in quelle di 1:500-2000)

**DIAGNOSI DIFFERENZIALE COI PSEUDOMORVOSI.** — Nello stesso gruppo del bacillo della morva si trovano il *b. orchiticus* o *pseudomorroso* di Kutscher.

Questo ha forma simile al bacillo della morva, però resiste al metodo del Gram. Inoculato nel peritoneo di cavie maschi produce un ispessimento nodoso delle membrane testicolari e peritonite emorragica: non produce però noduli, né il testicolo è ingrossato.

Coltivato a piatto in gelatina ed in agar produce colonie lobate simili a quelle del colera: sul siero forma una patina giallo-aranciata: il brodo alcune volte si intorbidia diffusamente, altre volte si formano dei fiocchetti visibili ad occhio nudo.

Sono stati descritti anche altri bacilli pseudomorvosi, che si diportano, inoculati negli animali, come il *b. orchiticus* e che non hanno i caratteri culturali del bacillo della morva.

Nello stesso gruppo del bacillo della morva si possono collocare anche alcuni così detti pseudotubercolari perché danno luogo inoculati nel peritoneo a dei semplici noduli dai quali sono coltivabili. Si tratta in genere di germi che si differenziano anche dal bacillo della morva perché resistono al metodo del Gram e che si ramodano al *b. pseudotubercolare* dei rosicanti

## II. — B. della peste.

Seminando il *b. pestis* nel siero di coniglio gelatinizzato (e nel brodo con aggiunta di varie quantità di bieromato potassico 0,01-0,04 % o di alcool sino al 10 %) si noterebbe la produzione di una serie di forme delle quali certamente alcune involutive, e altre evolutive, filamentose, a contenuto interrotto, a estremi rigonfiati, e perfino a catena. le quali hanno fatto pensare ad alcuni che il *b. della peste* si debba avvicinare al gruppo delle streptothrix.

### Caratteri microscopici.

Ordinariamente il b. della peste è un germe corto e tozzo, a contenuto non omogeneamente colorabile, perchè sono solo i poli quelli che si colorano (fig. 180); raramente le forme stanno isolate; per lo più sono riunite a coppia, a volte a catena. Queste ultime si riscontrano più spesso nelle colture che nello organismo, e allora, siccome il germe presenta il centro scolorato, pare di vedere una serie di anelli uniti gli uni agli altri. Il b. della peste viene da alcuni ritenuto immobile: secondo altri alle volte sarebbe mobile; ad ogni modo, se lo è, ciò accade raramente.

Non resiste al metodo di Gram, ordinario: vi resiste però se all'azione dell'alcool non si fa seguire la colorazione di contrasto e all'alcool si sostituisce l'olio di anilina (Weigerth). Non produce spore; alcuni corpicciuoli, trovati nel suo interno dallo Schülze, vennero ritenuti come organi di vita duratura (protospore di Feodorowitsch?) ma invece sono granuli metacromatici, ossia granuli costituiti da sostanza albuminoidea (Volutanskugeln di Grimme) (V. pag. 224).



fig. 180.

### Caratteri culturali.

Si coltiva su tutti gli ordinari terreni di coltura, però è necessario, per avere un buono sviluppo, tenerlo almeno 24-48 h a 20° C., e poi a temperatura alquanto inferiore a 37° C., poichè a 37° si ha uno sviluppo più stentato. Si coltiva male nei terreni glucosati, sulle patate e sulle carote: molto bene sul siero di coniglio gelatinizzato.

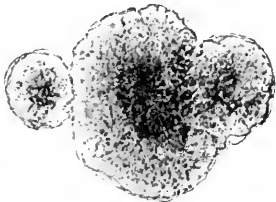


fig. 181.

*In gelatina a piatto* si formano colonie tondeggianti a contorni ondulati, fortemente granulosi, nucleate e schiacciate (fig. 181).

*In gelatina per infissione* si forma un chiodo piatto, e un nastrino senza nulla di caratteristico: la patina

in superficie non è rilevata, ma sottile, a bordi un po' più piani, più chiara alla periferia che al centro, spesso frammentata.

*Su agar a becco di flauto* si sviluppa una patina bianco-sudicia, umida poltacea, non molto diffusa, discontinua, come se stentasse a svilupparsi.

*Sulle patate* forma una patina sottile, lucente, su cui emerge qualche colonia biancastra.

*In brodo*, secondo la maggior parte degli osservatori, si sviluppa senza intorbidarlo: forma un deposito che sta fra il grumoso e il fioccoso; solo alle volte produce un lieve intorbidamento, che dura qualche giorno e poi scompare; in ogni caso si vedono dei fiocchetti nel liquido.

### Caratteri biologici.

Secondo alcuni, nel brodo peptonizzato produrrebbe indolo; il latte non viene sempre coagulato (pare che ciò avvenga quando si coltiva il germe a una temperatura superiore ai 20° C.); fermenta leggermente il lattosio.

È molto patogeno: il suo nucleoproteide (che si può estrarre col metodo di Lustig) (V. pag. 295) ha un'azione necrotica locale e coagula i succhi organici.

Il b. della peste inoculato negli animali riproduce l'ingorgo ghiandolare, pleuriti, peritoniti sieroemorragiche, versamenti sanguigni, iperemie, emorragie puntiformi negli organi.

Per poter riprodurre il bubbone è necessario strofinare il materiale pestoso o sulla cute dell'addome, o sulla mucosa boccale o nasale, o meglio inocularlo nella cornea, nel qual caso si formano da prima ingorghi delle ghiandole mascellari del medesimo lato, poi delle peribronchiali: si dice si possa avere anche la polmonite pestosa.

### Diagnosi.

IDENTIFICAZIONE. — Essa si può fare:

1° coll'inoculazione in animali da esperimento.

Si preferiscono i topi, che si inoculano nel cavo peritoneale: dopo 2-4 giorni gli animali muoiono di setticemia; i bacilli si trovano in tutti gli organi e nel liquido endoperitoneale col loro caratteristico aspetto navicolare. Se l'inoculazione si pratica nel sottocutaneo (si sceglie la base della coda nel topo) dopo 40 ore le ghiandole prossimiori sono ingorgate e si può avere anche qualche bubbone che col tempo suppara; quando gli animali muoiono i bacilli si trovano dappertutto: nella milza si notano dei noduli bianco-grigi che ricordano quelli della tubercolosi miliare.

Quando il materiale proviene da sputo, si può bagnarne un tampone di ovatta e strofinarlo sulla mucosa del naso o delle labbra di cani e conigli o inocularlo nella congiuntiva, e attendere di avere il tipico bubbone (nelle ghiandole cervicali) e la polmonite pestosa.

### 2° per mezzo di preparati colorati.

Si debbono trovare i bacilli di forma navicolare colorando col bleu di Löffler, col metodo indicato per il b. della morva o con altri procedimenti.

Se l'aspetto navicolare si nota in germi corti e tozzi provenienti da bubboni è quasi certo che si tratta di bacilli della peste, il contenuto dei bubboni venerei contenendo solo cocci o il bacillo del Durey che è ben diverso per dimensioni e aspetto (V. pag. 360).

### 3° per mezzo della sierodiagnosi.

Si deve ricorrere al siero degli animali immunizzati.

Markl avrebbe trovato che il siero di cavallo immunizzato agglutinava il b. della peste nella diluizione di 1:100 in  $\frac{1}{2}$ -1 h. Però altri ha trovato che ci si può attenere anche a diluizioni di 1:50: non bisogna però scendere a diluizioni più basse dell'1:10 perchè in questi rapporti vengono agglutinati altri batteri.

Si può anche adoperare il siero di conigli inoculati con siero di animali immunizzati (non serve il siero di coniglio vaccinato col vaccino Haffkine), perchè mentre il siero di conigli sani non agglutina affatto il b. della peste, il siero dei conigli così trattati lo agglutina. Può servire anche il siero di cavia inoculato ripetutamente (almeno tre volte) con vaccino Haffkine: il potere agglutinante specifico appare dopo 14 giorni dall'ultima inoculazione.

La prova dell'agglutinamento si può fare, invece che su brodculture o emulsioni di patine di bacilli in soluzione fisiologica, su culture necise col calore col metodo Haffkine.

Secondo Klein, si può ricorrere anche al siero di ratti guariti dall'infezione pestosa. Questo siero fatto agire su emulsioni di batteri della peste in soluzione fisiologica di *NaCl* (i brodi non servirebbero, perchè in essi si producono dei precipitati) si agglutinano nelle diluizioni di 1:40.

Finalmente alcuni sono ricorsi al siero di uomini pestosi: però si è visto che il potere agglutinante non compare in esso neppure quando sono trattati col vaccino Haffkine: è invece agglutinante il siero e l'urina quando gli individui si inoculano col siero di animali immunizzati, precisamente come i conigli.

Però, secondo Rood, si può ricorrere all'azione precipitante del siero dei malati, potere di cui l'A. si è servito per far diagnosi di peste nell'uomo.

Si raccoglie una goccia di sangue dal polpastrello del dito della persona da esaminare. Si mescola una goccia del siero con una cultura in agar del b. della peste e si lascia in goccia pendente per 24 ore: quindi si fa disseccare la goccia e si colora.

L'A. ha osservato:

1° se si tratta di sangue di persone sane oppure di persone colpite da forme avanzate e gravi di peste, i bacilli son ben conservati;

2° se si tratta di sangue di pestosi convalescenti, i bacilli sono distrutti;

3° se si tratta di sangue di pestosi guariti, oppure all'inizio della malattia, il bacillo è paralizzato nel suo sviluppo.

L'azione battericida del sangue dei convalescenti di peste dura per 6 settimane, talora fu osservato per 1-1  $\frac{1}{2}$  anno.

Secondo Polverini, il materiale su cui far agire il siero agglutinante si ottiene bene col metodo di Gibson.

In un vaso di 2-3 l. si versano 2-3 emc. di una soluzione di agar leggermente alcalina, la quale abbia una tale concentrazione da rimanere liquida. Vi si aggiunge una certa quantità

di coltura in brodo di bacillo pestoso e dopo 48 h una soluzione al 10 % di lisolo in soluzione fisiologica di *NaCl*, in tali proporzioni che 1 cuc. occupi 1 cucq. di superficie di agar. Si scuote il fiasco e si travasa il liquido, che è una emulsione del batterio, in un piccolo fiasco con 20-30 gr. di sabbia sterilizzata e si scuote di nuovo. Depostasi poi la sabbia, si filtra attraverso lana di vetro. Al liquido filtrato, in cui i germi sono stati uccisi dal lisolo, il quale non impedisce la reazione agglutinante, viene aggiunto il siero e il risultato della prova si osserva al microscopio dopo  $\frac{1}{2}$  ora.

**DIAGNOSI DIFFERENZIALE CON ALTRI GERMI.** — Alcuni germi, che hanno caratteri molto simili a quelli del b. della peste, possono trovarsi nei topi e bisogna saperli differenziare.

**B. PSEUDOTUBERCULOSIS RODENTIUM.** — Dal punto di vista morfologico e simile al b. pestis: dipiù inoculato nella congiuntiva produce tumefazione dei gangli sottomascellari i quali appaiono circondati da una infiltrazione siero-sanguinolenta; non si nota però alcuna lesione nei polmoni e nel fegato; solo la milza è tumefatta e presenta piccoli puntini biancastri. Si può differenziare questo bacillo per il suo modo di svilupparsi in terreni comuni e speciali, nonchè per la sua azione verso i topi e le cavie. Secondo Galli-Valerio i principali caratteri differenziali sarebbero i seguenti:

1° nell'agar e nella gelatina comuni il b. della peste forma colonie a contorni festonati; il b. pseudotubercolare colonie rotonde a nucleo centrale;

2° il b. della peste coltivato in gelatina Piotrkowsky produce colonie a bordi sinuosi e da uno dei bordi parte come una coda costituita da una serie di colonie (colonia a cometa); invece il pseudotubercolare forma colonie rotonde e nucleate;

3° nell'agar di Hankin (agar al 3 % di *NaCl*) a 20° C. il b. della peste dà forme involutive e molte forme a catena; invece il pseudotubercolare non dà mai forme involutive e solo di rado qualche catena;

4° il b. della peste a 37° non coagula il latte, il pseudotubercolare sì;

5° inoculando col pseudotubercolare i ratti, siano essi grigi, bianchi, o di campagna, non muoiono; inoculando col b. della peste le cavie sia nell'addome che sottocute muoiono per setticemia pestosa; gli organi si trovano infarciti di tubercoli bianchi come punte di spillo: sono invece questi punti vari nelle cavie inoculate col b. pseudotubercolare.

**B. BRISTOLIENSE.** — Sono bacilli simili a quelli della peste per il loro aspetto navicolare quando sono colorati: essi sono stati trovati nei topi, per i quali sono patogeni, ma non per i conigli. Producono ingorgo delle ghiandole prossimiori, aumento di volume della milza e iperemia dei polmoni. I caratteri culturali sono però diversi da quelli del b. della peste.

A questo gruppo forse si possono rannodare il b. dell'ulcera molle e il così detto b. del noma.

**I. B. DELL'ULCERA MOLLE (*B. ulceris canerosi* Ducrey)** sono germi piuttosto lunghi e grossi a estremità arrotondate, a volte con due rigonfiamenti laterali che gli danno la forma di cifra 8, sono isolati o a catena di 10-20 elementi. Si colorano coi comuni colori di anilina, però il centro rimane scolorito, i poli sono più colorati. Non resistono al Gram; non si coltivano sui comuni terreni, ma sull'agar-sangue e nel siero non coagulato di coniglio. A 37° C. dopo 24 h si formano colonie sollevate, rotonde, brillanti, le quali dopo 48 h diventano opache, grigiastre, grandi 1-2 mm.: appena esse si toccano coll'ago di platino, sembra che scivolino sul substrato di coltura.



Nel siero di coniglio si nota un leggero intorbidamento e la produzione di piccoli fiocchetti. Inoculati nell' uomo riproducono l' ulcera molle.

**IL B. DEL NOMA** (*b. nomae*, *b. Schimmelbuschii*). Sarebbe stato trovato in un caso di noma postifoso. È un germe ovalare a contenuto non omogeneo, piccolo, corto, capace di filamentarsi, immobile, non resistente al Gram, coltivabile in tutti i terreni a temperatura ordinaria.

Forma colonie non sollevate e simili a quelle del *b. coli*.

Per infissione in gelatina forma un chiodo piatto senza caratteri speciali.

In brodo si sviluppa dando luogo a fiocchetti.

In liquido ascitico coagulato forma colonie con prolungamenti apparentemente ramificati. Inoculato produce necrosi del sottocutaneo e ascessi e in un caso panofthalmitis.

Non si sa se sia la causa del noma perchè altri autori avrebbero trovato in casi di noma forme di bacilli o coniche o filamentose, o a rete (?): potrebbe darsi si trattasse di una streptothrix, di cui i diversi osservatori avrebbero visto stadi isolati di sviluppo.

## CAP. VII.

### BATTERI PROPRIAMENTE DETTI.

I batteri propriamente detti secondo Lehmann e Neumann sono le forme allungate che non formano endospore.

#### 1. — Batteri delle setticemie emorragiche.

Il gruppo dei batteri delle setticemie emorragiche comprende dei germi che sono stati isolati dall' uomo e dagli animali affetti da diverse infezioni.

1. Nell' uomo, sono stati descritti fra gli altri il *b. haemorrhagicum* e il *b. icteroides* (1).

**B. HAEMORRHAGICUM**, al quale si attribuisce la causa della Porpora emorragica o morbo maculoso di Werlhof. Si tratta di germi corti e tozzi a due o a filamenti, capsulati nell' organismo, non resistenti al Gram, facilmente coltivabili.

In gelatina a piatto formano colonie sottili rotondeggianti tenui e poco diffuse; su agar formano una patina uniforme bianco-gialliccia; sulle patate danno luogo a una patina biancastra, lucida, non espansa, spesso filamentata. Secondo alcuni sono patogeni per i sorci, secondo altri per le cavie e i cani: però in questi ultimi non sempre riprodurrebbero le lesioni descritte dagli autori nell' uomo.

**B. ICTEROIDES**, isolato dal Sanarelli nel 1897 da individui affetti da febbre gialla in America.

#### Caratteri morfologici.

Bastoncini ad estremità arrotondate; disposti per lo più in coppie di 2-4  $\mu$  di lunghezza e in generale due volte più lunghi che larghi; forniti di 4-8 ciglia peritriche; non colorabili col metodo di Gram, moltiplicantisi per scissione e non per spore.

(1) Andrebbe aggiunto anche il *b. della peste*, ma di esso abbiamo trattato precedentemente nel gruppo degli Scifobatteri.

### Caratteri culturali.

*In gelatina a piatto.* — Da principio colonie giovani, trasparenti, incolori e presentanti l'aspetto di leucociti con un nucleo oscuro, sferico, centrale o periferico; al 6<sup>a</sup>-7<sup>o</sup> giorno incominciano a perdere la trasparenza, e divengono opache del tutto.

*In gelatina per iniezione.* — Lungo il tratto d'innesto lo sviluppo è scarso e a forma di piccolissime sferule: in superficie è insignificante.

*In gelatina per strisciamento.* — Se il materiale d'innesto è abbondante, si ottiene un nastro sottilissimo e trasparente; se il materiale è scarso e le colonie si sviluppano isolatamente, assumono l'aspetto di brillanti gocce di un aspetto resinoso.

*Su agar a piatto.* — Il miglior mezzo per dimostrare l'aspetto caratteristico che presentano le colonie del *b. icteroides* che si ottengono sull'agar, è il seguente: con un'ansa di platino contenente uno scarsissimo materiale d'innesto (sangue o diluzione di coltura), si pratica una seminazione per strisciamento sulla superficie di un tubo di agar solidificato a becco di flauto. Dopo 12-14 ore di soggiorno nella stufa a 37° C. le colonie sviluppate, ben inteso ad una certa distanza l'una dall'altra, presentano un aspetto che non è definibile da quello di tante altre colonie microbiche, cioè sono rotondeggianti, trasparenti, un po' iridescenti e azzurrognole alla luce diretta. Se la coltura così ottenuta nella stufa, si trasforma e si mantiene per altre 12-14 ore alla temperatura dell'ambiente (20-28° C.), si osserva apparire attorno alle colonie un cerchio biancastro lucente, di aspetto madreperlaceo e opaco che si solleva molto al disopra del mezzo nutritivo e che contrasta nettamente con la parte centrale appiattita e trasparente. La figura che si ottiene in tal guisa venne chiamata per la sua analogia dal Sanarelli, *figura a sigillo di ceralacca*. Essa costituisce il più importante e il più infallibile carattere differenziale tra il *b.* della febbre gialla e tutti gli altri microbi descritti finora.

*In brodo.* — Lieve intorbidamento, senza formazione nè di pellicole nè di depositi fioccosi.

*Su patate.* — Sviluppo impercettibile.

*In latte.* — Sviluppo discreto senza coagulazione.

### Caratteri biologici.

Sviluppo alquanto lento e che diviene presto stazionario. È anaerobio facultativo. Verso gli agenti fisici si comporta così: al calore umido muore a 60° C. dopo un minuto e a 55° C. dopo 15'; al calor secco è molto resistente, a 100° muore solo dopo 1 ora e 10', a 120°-125° muore rapidamente.

Verso gli agenti fisico-chimici si comporta così: nelle colture per lo più muore dopo 1-2 mesi: il disseccamento di un ambiente secco a 37° C. lo uccide infallibilmente in 50 giorni; in un ambiente umido alla temperatura esterna variabile può resistere fino a 168 giorni. La luce solare diretta lo uccide in ore 7,30' (temp. est. 27°-28° C.). Nell'acqua di mare vive molto a lungo.

Fermenta insensibilmente il lattosio (nei brodi lattosati con *Ca CO*<sub>3</sub> non produce nessuna bollicina di gas), più attivamente il glucosio e il saccarosio.

È causa di *alterazioni* nell'uomo e negli animali, e l'infezione può determinare i suoi effetti più gravi, anche qualora il numero dei bacilli sia assai scarso, perchè i loro prodotti tossici sono molto attivi. Questi effetti sono i seguenti: febbre alta, vomito di sangue (vomito nero), dovuto ad una grave gastro enterite emorragica, anuria (nefrite), steatosi del fegato, congestioni intense del sistema nervoso, fenomeni emorragici da parte di tutte le mucose, gravissima ematolisi. Le alterazioni istologiche sono dovute all'alto potere tossico del veleno specifico, e consistono soprattutto nella degenerazione grassosa degli elementi cellulari, in ispecie del fegato, nella infiammazione parenchimatosa degli elementi renali, e in lesioni congestive ed emorragiche diffuse. Si trova nelle infezioni miste che sono comunissime e determinate per lo più dal *b. coli*, da streptococchi, stafilococchi, protei, ecc. i quali penetrano facilmente nell'organismo a causa delle profonde lesioni epatiche e intestinali e per lo spiccato potere chemiotattico positivo dei prodotti tossici del *b. icteroides*.

Uccide anche se iniettato in piccolissime quantità. È patogeno per tutti gli animali domestici (eccetto i gatti e i volatili), nei quali riproduce esattamente le stesse lesioni anatomiche e gli stessi sintomi morbosi che si osservano nell'uomo. Nei topi, nelle cavie e nei conigli produce una malattia *ciclica* della durata di 5-8 giorni (come nell'uomo), e la quale termina con una invasione del sangue da parte del solo *b. icteroides* inoculato. Nel cane riproduce il quadro esatto della febbre gialla umana, cioè vomito, diarrea, congestione delle mucose, gastro enterite emorragica, nefrite, anuria, itterizia, steatosi gravissima del fegato (sino al 70-72% di contenuto grasso), ed infezioni miste prodotte dagli streptococchi, stafilococchi, colibacilli, protei, ecc. Anche nella scimmia può osservarsi la steatosi del fegato.

Le capre, le pecore e gli asini sono pure sensibilissimi, e muoiono presentando lesioni anatomiche analoghe a quelle umane.

Riguardo alla *virulenza*, l'attività del *b. icteroides* si conserva a lungo; per uccidere un roditore bastano tracce di virus; per uccidere un cane è più utile ricorrere alla via endovenosa ed impiegare una dose di virus un po' più elevata. Si può anche aumentarla. Poiché il batterio è molto virulento, anche se ottenuto direttamente dal cadavere, ma coi passaggi continui attraverso gli animali aumenta certo la virulenza iniziale.

Circa il *meccanismo della sua azione patogena*, è stato dimostrato un veleno, la cui azione è identica a quella del virus e la sua penetrazione nell'organismo animale riproduce gli stessi sintomi e le stesse lesioni anatomiche caratteristiche della febbre gialla umana e sperimentale (vomito, nefrite, steatosi del fegato, anuria, gastro enterite emorragica, itterizia, ecc.). L'iniezione del veleno anche a piccole dosi nell'uomo determina la comparsa di una malattia sintomatologicamente e anatomicamente identica alla febbre gialla naturale, e in questi casi il siero ricavato da una vena ha lo stesso potere agglutinante verso il *b. icteroides* di quello manifestato dal siero degli ammalati o dei convalescenti di febbre gialla naturale.

### Diagnosi.

In occasione della epidemia di febbre gialla, che ha colpito lo Stato di New Orléans (Stati Uniti d'America), P. E. Archimard, Wooden e J. Ar-

chimar hanno applicato su larga scala (100 ammalati) la siero-reazione del batterio di Sanarelli. Dalle ricerche degli autori risultò che la siero-reazione nella febbre gialla si ottiene con la stessa facilità e con la stessa sicurezza che nella febbre tifoidea, poichè essi condussero le loro ricerche sperimentando la siero-reazione anche sul b. tifico come controllo. Il potere agglutinante specifico si manifesta nella febbre gialla subito al 2° giorno di malattia, permane nel sangue molto tempo dopo la convalescenza e gli autori lo hanno eccezionalmente conservato sino al 19° anno dopo la guarigione. Il limite di diluizione consigliabile è 1:40 come nella febbre tifoidea.

II. Negli animali i batteri trovati causa di setticemie emorragiche, sono moltissimi, e ancora poco bene studiati. Essi in questi ultimi tempi sono stati aggruppati dal Lignières nei due tipi del *colera dei polli* e dell'*hog-colera*.

Al primo tipo l'A. ha dato il nome di PASTEURELLOSI (corrispondente al genere *Pasteurella* di Trevisan), al secondo quello di SALMONELLOSI (corrispondente al nuovo genere *Salmonelle* in onore di Salmon, lo scopritore del batterio dell'*hog-colera*).

Nonostante la stranezza di queste denominazioni che non hanno la benchè minima base botanica o biologica, e che offrono il mezzo a coloro che si diletano di inventare nomi nuovi, per confondere di più gli studiosi, molti trattatisti, specialmente francesi (fra cui il Nocard e il Leclainche) hanno accettata, senza molto riflettere, tale distinzione dei germi delle setticemie emorragiche.

Solo per questo credo opportuno di riportare l'elenco di tutte le pasteurelle, le salmonelle, cui aggiungo quello delle setticemie non classificate, così come le elencano il Nocard e il Leclainche.

#### 1. PASTEURELLOSI:

aviaria (*colera dei polli*):

del coniglio (*setticemia del coniglio e setticemia di Beck*):

della cavia:

degli animali selvatici (*Wildscheuche*):

del montone (*pneumoenterite*):

della capra (*pneumonite infettiva*):

dei bovini [*setticemia emorragica (pneumoenterite)*, *pleuropneumonite settica dei vitelli*, *diarrea dei vitelli (white scour)*, *entéqué*]:

dei bufali (*barbone dei Lufali*):

del porco (*pneumonite contagiosa*, *swine-plague*, *schweinscheuche*, *schweinsseptikämie*):

del cavallo (*febbre tifoide*, *pneumonite infettiva*):

del cane [*malattie del cane*, *tifo del cane (malattia di Stuttgart)*].

#### 2. SALMONELLOSI:

peste dei suini (*hog-cholera*, *schweinpest*).

#### 3. SETTICHEMIE NON CLASSIFICATE:

enterite infettiva dei polli, malattie epizootiche dei polli, setticemie dei polli, leucemia infettiva dei polli, dissenteria dei polli e dei tacchini, setticemia emorragica delle anitre e delle galline, malattie dei tacchini, enterite infettiva dei fagiani, colera delle anitre, colera degli uccelli acquatili, setticemia delle anitre, setticemia dei cigni, malattia dei cigni coscoroba, malattie delle gru, dei piccioni, dei palombi, dei canarini, colera dei canarini, malattie dello struzzo, setticemia spontanea del coniglio, malattie settiche del coniglio.

I caratteri differenziali tra i vari batteri delle setticemie emorragiche si possono riunire nel seguente quadro, come ha fatto Roger:

TAB. 24.

Denominazione delle diverse forme della setticemia emorragica	Animali suscettibili di contrarre la setticemia		Animali che contraggono solo una lesione locale	Animali refrattari
	spontaneamente	sperimentalmente		
Colera dei polli	<b>tutti gli uccelli</b> conigli	sorci	<b>cavie, cavalli e montoni</b>	gatti, cani
Malattia dei fagiani	fagiani	verdoni, cavie, sorci	—	—
• dei colombi	colombi	conigli, piccioni, cavie	—	—
• dei canarini	canarini	passeri, piccioni, sorci	cavie	polli
Colera delle anitre	anitre	talora conigli	—	—
Enterite infettiva dei polli	polli	•	—	—
Dissenteria epizootica dei polli e dei tacchini	polli, tacchini	conigli (per inoculazioni intravenose)	—	—
Setticemia dei conigli	conigli	sorci, piccioni	—	—
•	conigli	talora cavie e polli	—	—
Rinite purulenta dei conigli	conigli	cavie, sorci	—	—
Setticemia dei furetti	furetti, conigli	passeri	—	—
•	furetti, conigli	talora piccioni	cavie	ratti polli
Malattia dei bovini e degli animali selvatici	daini caprioli, bovini	porci, conigli, topi, piccioni, cavie, montoni, cavalli, cani, gatti	—	—
Barlone dei lufali	bovini, porci	puledri, montoni, ratti, sorci, conigli, polli, piccioni	—	—
Malattia del mais-foraggio	bovini, equini	sorci, conigli, cavie, piccioni	—	—
Pleuro-polmonite settica dei vitelli	vitelli, capretti, porcellini	sorci, conigli, cavie	—	—
Polmonite contagiosa del porco ( <i>Sarcophaga</i> , <i>Schistocerca</i> )	porci	conigli, sorci, cavie, ratti, piccioni, vitelli; qualche volta polli	—	—
Pneumo-enterite infettiva ( <i>Hog-cholera</i> , <i>Schistocerca-pest</i> )	porci, montoni, buoi	capre, solipedi, polli, cani, sorci, ratti, conigli, cavie, piccioni	—	—
Polmonite infettiva delle capre	capre	vitelli, conigli, cavie, topi, piccioni	—	—
Malattia dei cani	cani, gatti	ad alta dose: conigli, sorci, cavie	—	—
Affezioni tifoidi del cavallo	cavalli	•	—	—

Io per comodità di studio riferisco solo la descrizione dei tre batteri seguenti: b. delle setticemie emorragiche; b. del tifo dei topi; b. del mal rosso.

**B. DELLE SETTICEMIE EMORRAGICHE (B. SEPTICAEMIAE HEMORRHAGICAE DI HÜPPE).** — Secondo Lehmann e Neumann, comprende la setticemia degli animali selvatici (Wildseuche), la setticemia dei bovini, il barbone dei buffali, la setticemia dei porci o pneumoenterite dei suini di Germania, la setticemia dei conigli, il colera dei polli.

Sono germi corti e tozzi capaci di filamentarsi, talvolta con contenuto non omogeneo e colorabile solo ai poli, non resistenti al Gram, generalmente immobili, ben coltivabili a 13°—37° tanto aerobicamente quanto in anaerobiosi. asporigeni.

*In gelatina a piatto*, formano colonie rotondegianti, da prima trasparenti, traslucide e poi bianco sudicie, perchè la massa della colonia si ispessisce e diventa opaca; i bordi sono rotondegianti, la superficie liscia, e in qualcuno filigranata e queste colonie filigranate alle volte assumono color bianco grigio, poi tendente al giallo; non sono fluidificanti.

*In gelatina per infissione* formano un chiodo tipico, patina diffusa, un po' rilevata, pianeggiante, umida, bianco-sudicia, a bordi poco rilevati.

*Su agar a becco di flauto* per lo più si ha sviluppo di una patina pallida velamentosa, madreperlacea prima, che in qualcuno inspessendosi diventa bianco-sudicia, umida, poltacea, a bordi ondulati, a volte gialliccia, ricordando quella del b. coli.

*Il brodo* viene intorbidato: salvo eccezioni non si forma pellicola, ma solo al fondo un sedimento polverulento.

Il latte, salvo che da qualche varietà di b. del colera dei polli e da quello della setticemia dei conigli, non viene coagulato; pare che tutti, meno il b. della pneumoenterite dei suini, producano indolo; nei terreni glucosati generalmente non producono gas: però acidificano i substrati.

Inoculati, uccidono con forme setticemiche, nelle quali primeggiano fenomeni a carico del torace (pneumoniti) e dell'addome (iperemie, enteriti emorragiche): il loro meccanismo d'azione è però ancora ignoto.

Generalmente non è facile differenziarli tra loro. Ad ogni modo ecco alcuni caratteri differenziali, i quali però vanno presi col beneficio dell'inventario:

Il b. del colera dei polli pare identico al b. della setticemia dei conigli: però c'è una forma di setticemia dei conigli (detta *spontanea* per distinguerla dalla precedente che si dice *sperimentale*) il cui batterio si differenzia perchè non è patogeno per i polli. Lo stesso b. del colera dei polli potrebbe confondersi con un germe simile che produce la così detta *enterite infettiva dei polli*, ma quest'ultimo è mobile, non si sviluppa su patate e non è patogeno per i colombi.

I vari bacilli della peste dei suini si differenziano tra loro: così quello della peste dei suini tedeschi (*b. suicida*) è patogeno solo per le cavie e non per i polli e i colombi, mentre al contrario si comporta quello della peste dei suini inglesi.

Si differenzia lo stesso *b.* della peste dei suini di Germania, dal *b.* della pneumoenterite infettiva dei suini (*b. cholerae suum*) (Hog-cholera danese, marsigliese, americano) per i seguenti caratteri (Lelmann):

TAB. 25.

Epizoozia dei porci americana (pneumoenterite - Hogcholera - <i>b. cholerae suum</i> )	Epizoozia dei porci tedesca (pneumoenterite - <i>b. suicida</i> )
Vivaci movimenti attivi	Immobile
Fermentazione del glucosio (acidi e gas)	Non fermenta il glucosio
Crescita rigogliosa su patata	Crescita scarsa o nulla su patata
Nessuna alterazione nel punto d'innesto	Gravi alterazioni nel punto d'innesto
Focolai multipli da coagulazione nel fegato	Fegato spesso in degenerazione grassa
Scarsi batteri nel sangue	Abbondanti batteri nel sangue del cuore e dei grossi vasi
Scarsi batteri nel punto di inoculazione	Batteri abbondanti nell'edema infiammatorio del punto di inoculazione
I piccioni sono molto sensibili, le cavie meno	Viceversa

Il *b. gallinarum* è simile al *b.* della peste bovina, che è però mobile e più grosso e non è patogeno nè per i polli nè per i colombi.

Il *b.* del barbone dei bufali assomiglia molto al *b.* della peste suina tedesca, e si differenzia così dal *b.* del colera degli uccelli.

**B. DEL TIFO DEI TOPI (*B. TYPHI MURIUM*).** — Sono germi piuttosto corti e grossi, alle volte riuniti in filamenti che non prendono il Gram, non formano spore e sono sempre mobili perchè peritrichi.

*In gelatina a piatto* formano colonie che si differenziano da quelle del colera dei polli, perchè sono venate, rotundeggianti, a bordi un po' sinuosi, pianeggianti: ricordano le colonie del *b.* del tifo.

*In gelatina per infissione* formano in superficie una patina sottile biancogrigia a bordi ondulati, che a piccolo ingrandimento presentasi spesso nervata. Lungo l'infissione si sviluppa un nastrino senza caratteri speciali.

*Su agar a becco di flauto* formano una patina più spessa di quella del colera dei polli, uniforme, liscia, umida, grigiastrea che ricorda piuttosto quella del *b. coli*.

*Su patate* formano una patina spessa, umida, poltacea grigiastrea, mentre tutt'attorno la patata assume una colorazione bruna.

*In brodo* producono intorbidamento uniforme con scarso sedimento e senza velo in superficie; aggiungendo al brodo glucosio non si forma gas; il latte diventa acido ma non coagula.

Il tipico *b. typhi murium* è patogeno pei topi domestici e campagnoli, ma non per i sorci grigi; produce la morte di essi fatto ingerire in 8-12 giorni con emorragie della mucosa intestinale e stomacale e con tumore di milza: i bacilli si trovano nel sangue e negli organi. Inoculato sottocute uccide in 2-4 giorni.

Alcuni differenziano da questo bacillo il *b. murisepticus* (Laser) che sarebbe più patogeno e prenderebbe il Gram. Certamente pare identico a questo uno isolato dagli spermofili (*spermophilus guttatus*) che è ancora più patogeno dei precedenti e non ha nome (si potrebbe chiamare *b. spermophilus septicus a pestifer*).

**B. MURISEPTICUS (B. DELLA SETTICEMIA DEI TOPI) E B. RHUSIOPATHIAE SCUM (B. DEL MAL ROSSO DEI SUINI).** — Sono germi molto piccoli che su determinati terreni colturali (agar, patate) possono filamentarsi, e perfino dicotomizzarsi (?), non resistono al Gram, sono per lo più immobili, qualunco si colora meglio ai poli anzichè al centro. Nell'interno dei tessuti essi si trovano prevalentemente sotto forma di batteri lunghi e molto sottili, endocellulari.

*In gelatina a piatto* formano colonie molto piccole e sottili, poco visibili (per vederli occorre un ingrandimento di 35-50 diametri a diaframma stretto). Si sviluppano come puntini di intorbidamento e mano mano che i batteri si moltiplicano, la colonia diventa finalmente granulosa, a superficie (al 3°-4° giorno) un po' ondulata. Dopo vari giorni il bordo è costantemente sfrangiato; l'intorbidamento della gelatina rimane solo alla periferia, di guisa che ogni colonia è visibile solo per una specie di alone. Siccome fluidificano lentamente, la colonia si infossa nel substrato.

*In gelatina per infissione* si forma nastrino appena visibile e attorno ad esso si nota un opacamento a cerchi giustapposti, maggiore in alto che in basso, il quale a piccolo ingrandimento appare dovuto a moltissimi rami molto fini che partono dalla linea d'infissione, e sono più lunghi e più spessi in alto che in basso (infissione ad abete umbecolare). Sulla superficie si forma una patina esile difficilmente percettibile. Questo germe fluidifica lentamente, per cui dopo 8-15 giorni l'infissione assume un aspetto imbutiforme (infissione a tulipano).

*Su agar a becco di flauto* si forma una patina sottile quasi invisibile (anche dopo 36-48 h), trasparente, la quale vista a luce obliqua appare formata da tante gocce rugiadiiformi che si conservano tali anche quando la coltura è vecchia.

*Su patate* o non si sviluppa, o lo sviluppo è impercettibile.

*Il brodo* viene intorbidato uniformemente; non si produce nè velo, nè sedimento; aggiugnendovi glucosio non si ha alcuna fermentazione.

*Il latte* non viene coagulato nè acidificato. Non si produce *H<sup>2</sup>S*.

Il *b. murisepticus* e il *b. del mal rosso* sono egualmente patogeni pei topi domestici e campagnoli; una differenza fra i due si cerca di fondare sul fatto che il *b. del mal rosso* produce colonie meno ramificate e che nell'infissione



L'aspetto dell'abete non è tanto facile ad osservarsi; in alcuni casi poi le colonie sarebbero molto diverse, come formate da tante zone allungate, partenti da un unico centro, con lacune interposte; questo aspetto però è veramente eccezionale.

Il b. del mal rosso è patogeno pel maiale, nel quale riproduce le tipiche lesioni del mal rosso, cioè chiazze cutanee isolate o confluenti, iperemie degli organi interni e delle mucose, ingorghi ghiandolari, tumefazione della milza: da tutti gli organi e dal sangue è possibile isolare il germe, il che si deve sempre fare, se non lo si vuol confondere col b. dell'Hogcholera, che può dare lesioni cutanee simili.

Accanto ai batteri murisettico e del mal rosso, ve ne sono altri più o meno bene descritti, cioè:

il *b. della Backsteinblattern*, che produce un'eruzione pustolare nei porci tedeschi, e che si distingue dal b. del mal rosso perchè è molto più patogeno di questo pei conigli;

il *b. ovisepticum* isolato del Dionisi dai polmoni di pecore morte per la così detta polmonite verminosa.

## II. — B. dell'influenza.

Sono germi molto piccoli, corti e sottili, a estremità rotondegianti: le forme nettamente bacillari si osservano specialmente nell'agar-sangue (fig. 182); nel brodo invece sono più numerose le

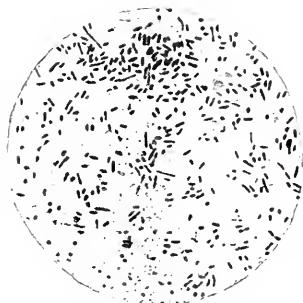


fig. 182.



fig. 183.

forme corte che simulano un cocco (fig. 183); non resistono al Gram; sono immobili, disposti a 2, a 4, o a piccole catene di elementi disuguali, e, in determinate e rare condizioni, in piccoli filamenti; visti a forte ingrandimento, appaiono, quando si colorano, colorati solo ai poli. In genere non si colorano bene coi comuni colori di anilina: discretamente però con lo Ziehl diluito e col bleu di metilene. Pare però sia meglio usare i colori sciolti in soluzioni di sublimato, secondo il metodo di Pewsner.

Il b. dell'influenza si sviluppa su agar sangue, e in genere in tutti i terreni contenenti emoglobina, o siero, o liquido ascitico, con glicerina, e aggiunti di una goccia di sangue di uomo, di coniglio o di piccione (che sarebbe il più ricco in emoglobina) o di ematogeno (1).

Il Perez ha anche constatato che il b. dell'influenza è dotato di una squisita sensibilità di fronte alle varie sostanze che entrano nella composizione del terreno nutritivo; basta a volte cambiare la qualità del peptone che si adopera nella preparazione del substrato, o modificare leggermente la reazione del substrato stesso, per ottenere dei risultati positivi là dove prima gli innesti restavano sterili. Sarebbe più propizia una reazione nettamente alcalina piuttosto che una alcalinescenza molto debole. Egli ha constatato che i terreni contenenti sangue od emoglobina sono i migliori: lo sviluppo nei comuni terreni (agar glicerinati), nei quali il Bruschetтини ha trovato che pure si può sviluppare, all'A. sarebbe la maggior parte delle volte riuscito negativo.

Secondo Bruschetтини, se si estraggono asepticamente 3-10 emc. di sangue da individui affetti da influenza e si tengono nel termostato a 37° e dopo un certo tempo si fanno trapianti in agar glicerinato, si sviluppa bene: così pure nel siero di sangue gelatinizzato e nel brodo.

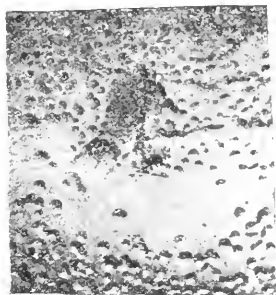


fig. 184.

Forma colonie sottili, appena visibili, trasparenti, rotondeggianti, rugiadiformi (fig. 184); solo a volte confluiscono, formando una piccola patina sottile senza caratteri speciali, ma generalmente ciò non succede. L'acqua di condensazione resta perfettamente trasparente: solo al fondo si nota qualche fiocchetto biancastro.

Il brodo è leggermente intorbidato e vi si forma un deposito scarso; solo alle volte si nota qualche grumetto che rimane attaccato alle pareti del tubo. Invecchiando però la coltura (in genere dopo 3-4 giorni), il brodo ritorna perfettamente limpido.

Certamente possiede una serie di caratteri biologici speciali, ma per le difficoltà culturali (specialmente in rapporto alla durata della coltivabilità) non sono stati studiati: forse agisce per opera

(1) L'ematogeno si prepara col tuorlo d'uovo, digerendolo in succo gastrico. Secondo Bunge è una nucleina e sarebbe importante per la formazione del sangue.

di proteine e di tossine (il Bruschetti avrebbe trovato il sangue molto tossico). Le colture filtrate allo Chamberland, secondo altri, uccidono conigli e cani, e sterilizzate col clorofornio hanno la stessa azione.

Alcuni trovarono che, inoculato, produce chiazze emorragiche nel punto di innesto, iperemie negli organi interni, versamenti di liquidi nella cavità. Dice il Perez:

Di tutti gli animali sperimentati dal Pfeiffer (topi, ratti, cavie, conigli, maiali, gatti, cani, scimmie), solo nelle scimmie inoculate nella trachea o nel polmone, si determinarono delle alterazioni aventi una certa analogia con quelle provocate nell'uomo dall'influenza, come reazione febbrile, qualche po' di tosse, fatti di catarro bronchiale. Con dosi forti (3 patine in agar) iniettate nella trachea, si aveva intossicazione acuta, seguita da morte, senza lesioni nè macroscopiche, nè microscopiche, delle vie respiratorie, e degli altri organi.

Nei conigli il Pfeiffer avrebbe ottenuto solo fatti tossici, con modificazioni della temperatura e notevole indebolimento muscolare: dopo 5-6 ore i conigli si rimettevano completamente, salvo che la dose inoculata fosse stata forte perchè allora morivano in breve tempo.

Il Bruschetti, invece, inoculando nella trachea dei conigli  $\frac{1}{2}$  cmc. di una delle sue colture di influenza in sangue notò elevamento di temperatura, seguita da abbassamento della stessa e morte dell'animale dopo 48 ore con gli stessi sintomi osservati da Pfeiffer: alla sezione si notava congestione infiammatoria broncopolmonare. Iniettando 1-2 gocce di coltura in sangue, la morte si aveva in 8-10 giorni con sintomi uguali e all'autopsia si notava bronchite, focolai polmonali di splenizzazione e anche focolai tipici di broncopolmonite. Nella cavità pleurica si notava del liquido sieroso o sanguinolento con qualche fiocco di fibrina e di pus, e con essudato fibrinopurulento. Notò anche talvolta focolai metastatici nella sostanza corticale dei reni e alla superficie del fegato.

Recentemente poi il Perez riferisce che le piccole dosi delle sue colture produssero nei conigli solo disturbi transitori, le forti morte in 24-48 ore con le note della tossiemia acuta.

Inoculando il germe direttamente nei vari organi e tessuti, solo in pochi casi avrebbe ottenute lesioni locali e precisamente infiammazioni polmonali e pleuriche, otiti medie purulente, artriti purulente, ipopion, panoftalmite, ecc. Avrebbe però osservata una grande frequenza nelle suppurazioni delle ferite laparotomiche, che era costretto a praticare nei conigli per eseguire le inoculazioni nei visceri addominali, suppurazioni prodotte dal batterio dell'influenza. Dei vari animali solo quelli che hanno presentato lesioni suppurative sarebbero morti in un periodo di tempo più o meno lungo in preda a cachessia accentuatissima e con fenomeni tossici.

Le lesioni riscontrate dall'A. nei vari organi sarebbero le seguenti:

1° nella cute alterazioni trofiche come quelle che si riscontrano negli animali intossicati, cioè aree alopeciche, secchezza e desquamazione furfuracea, eczema:

2° nel cellulare sottocutaneo, ascessi:

3° nell'apparato muscolare, affezioni tali da riavvicinarsi al reumatismo muscolare e al microscopio constatabili come miositi parenchimatose ed interstiziali più o meno intense con esito talvolta in suppurazione:

4° nell'apparato broncopolmonale, polmoniti lobulari, mal lobari, ed epatizzazione polmonale: la produzione di fibrina era quasi mancante: non si riscontravano veri focolai necrotici e pneumoniti indurative, bensì piccoli ascessi polmonari da influenza limitati generalmente ai tessuti peribronchiali:

5° nella pleura processi infiammatori più o meno intensi con tendenza alla formazione di ascessi e di stravasi sanguigni.

Secondo P.A. indebolendo poi la resistenza dell'intero organismo (con la inoculazione di prodotti tossici diversi) si possono riprodurre parecchie delle varie alterazioni anatomopatologiche tipiche riscontrate nell'omo e dimostrare così anche sperimentalmente che il b. dell'influenza negli animali (conigli) non determina solo una forma acuta di tossiemia, ma anche una forma subacuta o cronica.

### Diagnosi.

IDENTIFICAZIONE. — La identificazione del bacillo dell'influenza si fa:

#### 1° NELLO SPUTO.

*mediante preparati*: si prende lo sputo fresco del mattino scegliendo le parti più dense, di colore giallo verdastro (secreto bronchiale), si stende sopra un portoggetti, si secca, si fissa delicatamente e si colora a freddo per 10 minuti in soluzione di Ziehl diluita 10-20 volte, oppure, ma meno bene, in liquido di Löffler.

Se si trovano cumuli di piccoli bacilli addossati agli elementi epiteliali si può sospettare la presenza del b. dell'influenza. Va notato che bisogna ripetere le prove molte volte prima di negare l'esistenza di detto batterio nello sputo, perchè esso non sempre vi si trova, anche in casi di epidemia di influenza. In ogni caso si esamini bene il secreto bronchiale e il nasale; se manca nel primo, spesso è nel secondo.

*mediante colture*: si prende un po' di secreto bronchiale, si lava in scatole contenenti acqua sterilizzata (si può prendere all'autopsia anche un po' di polmone), si stempera il materiale in 1 cmc. di brodo sterile: quando si è ottenuta una emulsione uniformemente torbida, con l'ansa di platino si seminano becchi di flauto di agar al sangue: dopo 20 h a 37° si debbono vedere delle colonie rugiadiformi.

#### 2° NEL SANGUE E NEGLI ORGANI.

*mediante preparati colorati*, disteso il materiale si fissa in alcool per 10 minuti e poi si colorano in una soluzione acquosa concentrata di blen di metilene (40 p.) e di eosina al 4 % in alcool a 70° (20 p.) e acqua dist. (40 p.), tenendoveli per 3-6 h a 37°: i bacilli appaiono colorati in blen in campo rosa;

*mediante colture*, si adopera il metodo del Bruschetti (V. pag. 370).

## 3° NELLE COLTURE.

Si può provare se si tratti di un germe capace di uccidere i conigli con localizzazioni nei punti di inoculazione e contemporaneamente per setticemia. Non pare si possa ricorrere al metodo sierodiagnostico, perchè alcuni affermano che nelle brodocolture non avviene nè agglutinamento nè chiarificazione con l'aggiunta di siero di malato d'influenza. (È una questione che va ancora studiata).

**DIAGNOSI DIFFERENZIALE.** — Nello sputo e nell'aria si possono trovare diversi batteri molto piccoli, che all'esame dei preparati colorati si possono confondere coi bacilli dell'influenza. Essi sono i seguenti:

**B. PSEUDOINFLUENTHIAE** (Pfeiffer): generalmente non è endocellulare ed è disposto ad ammassi in cui prevalgono i filamenti e le catenelle; alle volte è stato trovato negli sputi di bronchitici sotto forma streptobacillare; è ben coltivabile e produce colonie regolari, visibili, bianchicce.

**B. CONIUNCTIVITIDIS**: è intracellulare, disposto a due, pei suoi caratteri culturali è simile al *b.* della setticemia dei topi: si trova nella congiuntiva e va differenziato dal *b. pseudoco-niunctivitis*, il quale è estracellulare, non è patogeno, fluidifica e produce un pigmento giallo canario.

**B. SALIVAE MINUTISSIMUM**: è estracellulare, coltivato si sviluppa in gelatina; su patate produce una patina bruna.

**B. CAVERNIS MINUTISSIMUM**: non è mai endocellulare, si trova in ammassi; è strettamente anaerobico.

**B. AERIS MINUTISSIMUM**: produce un pigmento giallo-canario ed è simile al *pseudoco-niunctivitis*, ma si isola solo dall'aria.

**B. AUREUS MINUTISSIMUM**: si isola anch'esso dall'aria; produce un pigmento giallo oro, ed è molto patogeno specialmente pei topi e pei conigli, che uccide per setticemia.

**B. PYOGENES MINUTISSIMUM**: fu isolato dal pus di un ascesso di un sifilitico, ha i caratteri del *b. aeris minutissimus*, però non fluidifica la gelatina e non è patogeno nè per i sorci, nè per i conigli; produce un pigmento giallo nelle colture.

Non è possibile confondere i germi appartenenti al gruppo dei batteri dell'influenza con quelli che si rannodano al gruppo degli sputigeni, perchè si tratta di germi che prendono il Gram, e nell'organismo sono spesso capsulati. Essi sono:

Il **B. SPUTIGENUM TENUE** (Pansini): fu isolato dal Pansini dallo sputo di tubercolosi e polmonitici: è molto piccolo, alle volte in filamenti, sempre capsulato, immobile.

Forma colonie rotonde, ben visibili a 30-40 diametri, formate da una serie di aloni concentrici: esse dopo 8-15 giorni assumono un colorito giallognolo, e la periferia diviene raggiata, chiara, trasparente, pianeggiante.

Nell'infusione si forma un cordoncino punteggiato.

Su agar si forma una patina sottile, visibile, umidiccia, e quando è vecchia gialliccia.

Intorbida uniformemente il brodo.

Il latte viene coagulato per la formazione di acidi.

È patogeno per i conigli e i ratti bianchi, non lo è per le cavie e i ratti grigi:

Il **B. SPUTIGENUM CRASSUM** è molto più grosso, con tendenza alla forma coccacea, può capsularsi, è immobile;

Le colonie sono più grandi e visibili anche a occhio nudo, emisferiche, bianco grigiastre; su agar forma una patina sottile:

il *B. SANGUINIS TYPHI* fu confuso col *b. typhi* perchè isolato dal sangue di tifosi, ma resiste al Gram: coltivato su agar e vista la patina a luce obliqua essa è grigio bluastra;

il *B. CUNICULICIDA HAVANIENSE* fu isolato da individui morti di febbre gialla: esso ha i caratteri morfologici del tifo e culturali del coli: è patogeno nei conigli solo quando venga inoculato nel peritoneo. Si chiama anche *b. coli colorabilis*;

il *B. ENDOCADITIDIS GRISEUM* ha molti dei caratteri morfologici del *b. del tifo*: ma esaminato nei tessuti appare articolato come il *b. della difterite*. Forma colonie spesse filamentoze simili a quelle del *b. pneumoniae Friedländer*. Su patata dà una patina grigio brunastra. Inoculato nelle vene dei conigli (anche senza la iniezione preventiva di sostanze inerti) si localizza prevalentemente sulle valvole aortiche: è patogeno anche per i sorci.

### III. — Batteri capsulati.

Nel gruppo dei batteri capsulati si collocano tre germi patogeni per l'uomo:

il *b. pneumoniae (micr. pneumoniae, pneumobacillo)* di Friedländer;

il *b. ozaenae (capsulatus mucosus, mucosus ozaenae)*;

il *b. rhinoscleromatis*;

i quali sarebbero, secondo alcuni, identici fra di loro, e al *b. aerogenes (lactis aërogenes)* o *b. pyogenes* di Albarran.

*B. PNEUMONIAE FRIEDLÄNDER.* — Sono germi molto corti e tozzi, isolati o a due raramente disposti a catena, forniti, soltanto quando si osservano nell'organismo, di una capsula; immobili, non resistenti al Gram, facoltativamente anaerobi.

Si coltivano su tutti i substrati ove presentano i seguenti caratteri:

*In gelatina a piatto* formano colonie emisferiche, bianchicce a bordi regolari, d'aspetto porcellaneo, di consistenza mucosa con alla periferia un alone più chiaro dovuto all'essere la parte periferica più piana: in alcune colonie è possibile vedere una specie di raggiatura che parte dal centro e va verso la periferia a spira.

*In gelatina per infissione.* lo sviluppo non è caratteristico: il nastrino è granuloso, e la patina è capoliforme, bianchiccia, a contorni regolari e di consistenza mucosa.

*Su agar a becco di flauto* formano una patina omogenea, bianco-sporca, trasparente, che vista a luce obliqua, qualche volta ha lievi riflessi madreperlacei, i quali ricordano quelli della patina del *b. coli*: il colorito però è più grigio; l'acqua di condensazione è torbida.

*Su patate* produce una patina spessa rilevata, a bordi regolari che coll'andar del tempo da grigia diviene giallo-chiara e poi bruniccia.

*Il brodo* viene fortemente e uniformemente intorbidato: si forma un deposito mucoso che, sbattendo, si diffonde rapidamente.

*Il latte* viene coagulato nelle prime 24 h, e si ha sviluppo di acidi.

Nei terreni glucosati o lattosati si sviluppa pure bene e produce acidi e gas ( $CO_2$ , H).

È patogeno specialmente nei topi, che uccide per setticemia: si ritiene da alcuni patogeno anche per l'uomo nel quale produrrebbe polmoniti e setticemie (?).

Si può isolare dallo sputo di individui polmonitici e sani.

Caratteri molto simili al *b. pneumoniae*, hanno i seguenti germi:

*b. lactis innocuus* si sviluppa nel latte come il pneumobacillo;

*b. ovatus minutissimus* (U'na) trovato in casi di eritemi acuti: è un germe capsulato immobile, che non resiste al Gram; ed è patogeno solo per i topi e non per le cavie e i conigli;

*b. compactum* che si differenzia dal precedente perché su patate questo si sviluppa e quello no;

*b. lactis viscosus* di Adametz si trova nel latte, ma esso non coagula il latte, il quale però diviene mucilagginoso e lo stesso si dica del brodo, dove produce indolo.

Col pneumobacillo si confondono molti *b. capsulati* (di Pfeiffer, Nicolajev, di Koeb, di Mandres, di Marchand, di Duncjer) che non si possono fino ad ora ben differenziare essendo poco completamente descritti. Certo i bacilli capsulati dell'acqua di fogna, della cheratomalacia, il mucoso di *Fashyng* hanno i medesimi caratteri del pneumobacillo: solo pare che non producano gas nè coagolino il latte;

Al *b. pneumoniae* si riportano anche: un *b. della pleuropolmonite* dei cavalli (nell'essudato e nel sangue si trova capsulato, ed ha, se coltivato, uno sviluppo meno rigoglioso) e il *b. pseudo-pneumonicus* riscontrato nella saliva di individui sani forse identico al *b. pneumoniae*.

Anche il *proteus hominis capsulatus* (Bordoni e U'ffreduzzi) o *b. capsulatus septicus*, per presentando forme ovalari e forme più o meno allungate, che lo fanno somigliare ad un proteo, in realtà ha i caratteri del *b. pneumoniae*.

**B. DELL' OZENA.** — Il *bacterium ozaenae* è rappresentato da un batterio corto e tozzo, immobile, non sporigeno, generalmente appaiato, uniformemente colorabile, resistente al Gram, rivestito da una capsula in genere così spessa da dare al microrganismo dimensioni tre e persino quattro volte più grandi di quelle che non abbia in realtà. Esso si sviluppa rigogliosamente nei comuni substrati di nutrizione, preferibilmente però alla temperatura di 35°-37° ed in presenza di ossigeno.

*In gelatina a piatto* forma colonie più grandi di una capocchia di spillo, cupoliformi, bianco-sporeche, non fondenti, a bordi regolari, a contenuto omogeneamente e finamente granuloso, senza nucleo.

*Sull'agar a piatto* si sviluppa solo in superficie, formando delle colonie molto più grandi di una capocchia di spillo, cerulee, trasparenti, a bordi regolarissimi cupoliformi, dal noto aspetto di goccioline di acqua torbida. La colonia non è nucleata. Vista al microscopio ad ingrandimento di 40 diametri, appare finissimamente granulosa senza aloni o bordi concentrici; solo in qualche caso si

nota un centro più spesso, di rado distinto dal resto della colonia per mezzo di un cerchietto periferico più chiaro.

*In gelatina per infissione*, in superficie ha uno sviluppo poco diffuso dal punto d'innesto, sotto forma di una patina bianco-sporca, a bordi leggermente lobati, a superficie omogenea umida; lungo l'infissione forma un nastro senza caratteri speciali.

*In agar per infissione*: sviluppo abbastanza diffuso dal punto d'innesto, sotto forma di una patina bianco-sporca, spessa, umida, a bordi lobati, omogenea, lucida. Lungo la infissione, sviluppo nastroforme, anch'esso senza caratteri speciali: solo qualche volta si nota ai bordi del nastro uno sviluppo nubecolare che però appena emerge dal nastro stesso.

*Su agar a becco di flauto* forma una patina diffusa su tutta la superficie del substrato di nutrizione, sottile, trasparente, cereulea, umida, la quale sembra dovuta allo scorrimento lungo la superficie dell'agar di una o più gocce di acqua torbida: tale aspetto si mantiene anche nei beccoli di flauto che hanno una data di 10 giorni. L'acqua di condensazione dell'agar si presenta torbida uniformemente dapprima e solo coll'invecchiare della coltura, sembra che si formi un deposito fiocco-grumoso.

*In brodo* si sviluppa intorbidando uniformemente il liquido, formandovi un deposito leggermente fioccoso e molto lieve. In superficie dà luogo, ma non sempre, ad una patina sottile cerulea, facilmente frammentabile, che con costanza rimonta le pareti del tubo, aderendovi sotto forma di un velo a cercine, trasparente, omogeneo, ceruleo.

In genere non è patogeno, inoculato per via ipodermica agli animali: i conigli e le cavie sono meno sensibili dei topi; le cavie si possono però uccidere quando l'iniezione si faccia per la via del peritoneo, i conigli invece quando l'inoculazione si fa nelle vene e nel peritoneo.

**B. DEL RINOSCLEROMA.** — Si trova nelle lesioni rinoscleromatose: è un germe corto e tozzo, isolato a due o a catena e capsulato: la capsula si conserva anche, se coltivato, in tutti i substrati, eccettuato il brodo. Resiste abbastanza bene al Gram. Lo sviluppo culturale è come quello del *b. pneumoniae*, però le colonie sono sempre trasparenti.

Non è patogeno in genere per gli animali, quantunque qualcuno l'abbia trovato patogeno come il *b. pneumoniae*.

**B. LACTIS AÉROGENES.** — Il *b. lactis aërogenes* ha i caratteri del *b. pneumoniae*, dell'ozena, del rinoscleroma, però può a volte



colorarsi col Gram: secondo alcuni è immobile e difficilmente capsulato nei terreni liquidi, salvo che nel latte, ove pare lo sia costantemente.

Anche esso dà gas e acidi nei terreni glucosati e lattosati.

Ad esso si riportano i seguenti germi: *b. cavicida* o *coli immobilis* o *coli similis*; *b. neapolitanus*; *b. della setticemia dei gatti*; *b. della dermatite esfoliativa epidemica*.

Il *b. lactis aërogenes* si suole differenziare dal *b. acidi lactici*.

I B. ACIDI LACTICI sono germi corti, ovalari, isolati o a 2 o a catena, e ciò in tutti i substrati, immobili, resistenti pochissimo al Gram.

Si sviluppano su tutti i substrati meglio dei germi precedenti, formando colonie spesse, opache, grigiastre, avvicinandosi quindi più al *b. coli* che al *b. pneumoniae*.

In gelatina formano colonie grandi persino 5-10 mm.

Su agar e specialmente in quelle colture vecchie nelle quali è rimasta l'acqua di condensazione, la patina è bianco-sporca prima, poi gialliccia e infine bruna.

Sulle patate si sviluppano come il *b. pneumonico*. La patina appare qua e là come con perdite a stampo o a cratere, dovute alla produzione di bollicine di  $CO_2$  che scoppiano.

Il latte coagula in una massa compatta, da cui si separa il siero limpido e ceruleo: la coagulazione avviene per l'azione dell'enzima e per la produzione di acidi, specialmente di acido lattico inattivo.

Non deve confondersi ad ogni modo con altri germi del latte per esempio col *b. gùnterii*, che è quello proprio della coagulazione spontanea del latte.

Questo si sviluppa sui comuni substrati formando colonie poco visibili e nei substrati con l'aggiunta di calce forma colonie circondate da una zona trasparente.

Così pure non va confuso col *b. di Pflüger* che ha molte forme involutive: esso è il così detto *b. phosphorescens*, il quale produce la fosforescenza delle carni, dei pesci, dei crostacei del mare, ecc.

Anche il *b. ureae* è diverso: ad esso si riunisce un gruppo di germi a sè capsulati, dei quali sono state isolate varie forme che pare abbiano gli stessi caratteri: sono germi staccati o a due o a catene che attaccano e decompongono l'urea.

Formano colonie molto espanse, che possono ricordare quelle del *b. acidi lactici*, ma hanno i bordi molto più sfrangiati, ecc.

#### IV. — Protei.

Il gruppo dei protei è rappresentato da germi che hanno realmente qualche punto di contatto con alcuni germi capsulati, tanto è vero che uno di questi (il *pr. capsulatus hominis*) è stato collocato tra i protei dallo scopritore.

Esso, pare, si ricollegli però anche al gruppo delle streptotrix, come risulta dagli studi fatti sul *b. zoppi*. Infatti questo germe, coltivato su substrati minerali solidificati (agar), forma due specie di colonie: le une trasparenti, sottili, a bordi regolari: le altre invece a bordi anfrattuosi, raggianti. Se il materiale di queste ultime colonie si semina su dischi di caolino imbevuti di sostanze minerali, allora si vede il germe filamentarsi, i suoi estremi si articolano, trasformandosi in una serie di corpi rotondeggianti: alcuni germi infine pare si ramifichino (?). Se questi germi allora si innestano nei comuni substrati aggiunti di sostanze minerali, e poi nei soliti terreni comuni, essi assumono i caratteri culturali di una streptotrix, cioè:

a piatto in gelatina formano colonie ramoso-cespugliose, rotondeggianti, rilevate, a contorni areolati come nelle streptotrix:

per infissione nello stesso substrato si forma un nastro lungo da cui partono rami corti, clavati e interrotti:

in superficie si forma una patina densa non molto diffusa, a bordi regolari, che si infossa come fanno le streptotrix sul substrato culturale:

su agar si forma una patina secca discontinua data dalla riunione di più colonie rotondeggianti, cupolate a superficie anfrattuesa:

in brodo, specie se al fondo del tubo si pone un dischetto di agar, il germe si sviluppa attorno all'agar come piccole colonie areolate che non si fondono.

I germi che appartengono al gruppo dei protei si possono riunire nei due tipi di *b. zoppi* e di *b. vulgare*.

Il *B. ZOPFI* è un germe piuttosto lungo, che facilmente si filamenta, e i filamenti possono presentare estremi articolati: ogni articolo può staccarsi.

È molto mobile perchè è peritrico, resiste al Gram ed è anaerobio facoltativo: però si coltiva meglio in aerobiosi.

In gelatina a piatto forma colonie molto delicate, sottili, velamentose, grigio-bianche al 4°-5° giorno: a piccolo ingrandimento appaiono fatte come da un reticolato che ha l'aspetto di una tela di ragno: dai bordi della colonia in seguito, si partono filamenti che si aggrovigliano, si dispongono a spirale (a saleiccia, come si dice) e che si spargono irregolarmente nel substrato (V. fig. 114-l).

In gelatina per infissione si forma in superficie una patina molto sottile, diffusa, formata da filamenti raggianti.

Su agar si sviluppa una patina pallida, diffusa, bianco-grigia che non presenta alcuna ramificazione: lo sviluppo su agar è molto rapido.

Sulle patate lo sviluppo è identico a quello su agar, però la patina è più visibile ed è bianco-grigia.

Il brodo viene poco intorbidato: anzi secondo alcuni non lo verrebbe. Ad ogni modo non si forma alcun velo in superficie: al fondo si nota uno scarso sedimento fioccoso.

Non coagula il latte, e non ne modifica la reazione.

Nei terreni glucosati o lattosati produce una scarsa quantità di gas ( $H^2 S$ , come il tifo) e solo tracce di indolo.

Possiede la proprietà, innestato per infissione in tubi di gelatina, di sviluppare le barbe verso il punto donde viene maggior quantità di calore (termotropismo positivo). Così pure se è coltivato a 18°-20° C. le barbe si sviluppano nel senso della gravità (barotropismo positivo).

In genere il *b. zoppi* non è patogeno per gli animali: però lo si può isolare dal pus di ascessi, da metriti catarrali e allora se lo si passa da ani-

male ad animale, può riprodurre noduli a contenuto purissimo e talvolta veri ascessi: ad ogni modo non uccide mai gli animali per setticemia.

Il *b. zopfi* pare sia stato da molti autori descritto con nomi diversi: così l'Escherich isolò dalle feci il *b. zopfi* chiamandolo *elicobacterio*; il Klein lo chiamò *b. allantoides*, il Kühne *proteus zenkeri*, col quale lo confuse.

Appartenti allo stesso gruppo del *b. zopfi* e sino ad un certo punto differenziabili sarebbero il *proteus mirabilis*, il *b. zenkeri* e il *b. heminecrobiphilus*.

Il PR. MIRABILIS sarebbe un *b. Zopfi* capace di fluidificare lentamente la gelatina e nelle colture presenterebbe molte forme involutive.

Il PR. ZENKERI non sarebbe fluidificante ma attaccherebbe meno dello *zopfi* i terreni glucosati, producendo meno indolo e meno gas.

Il B. HEMINECROBIOPHILUS fu isolato dall'Arloing da linfadeniti e si differenzia perchè nelle patate produce una patina gialliccia.

Il B. VULGARE (*proteus vulgaris*, *bacillus proteus*): è rappresentato da elementi di cui alcuni sono coccoforni, più o meno grossi, altri a virgola, a filamenti. È peritrico ed è molto mobile: resiste al Gram ed è anaerobio facoltativo; si sviluppa bene a tutte le temperature da 20° a 37° C.; e si coltiva bene in tutti i terreni.

In gelatina a piatto forma colonie sottili, trasparenti, velamentose, fluidificanti: viste a piccolo ingrandimento appaiono finamente granulose a bordi lisci, trasparenti: però coll'inviechiare, a partire dal centro, si formano delle strie e zolle che si vedono galleggiare sulla gelatina fluidificata, e che si avvicinano alla periferia, dal cui bordo si spargono nella gelatina circostante (colonie digitate) assumendo dimensioni di 1 cm. e più.

In gelatina per infissione il *b. vulgare* produce da prima una fluidificazione tubulare e poi a cilindro. La gelatina fluidificata è torbida e al suo fondo si forma un deposito: in superficie non si forma velo.

Su agar a becco di flauto si forma una patina diffusa, trasparente, bianco-sporea, spessa; dalla linea di innesto si partono numerose digitazioni che invadono il substrato.

Il brodo viene uniformemente e molto intorbidato; il sedimento è abbondante, fioccoso, granuloso: in esso il *b. vulgare* produce odor di putrefazione.

Nel brodo glucosato produce molto  $H^2S$  e indolo; nel brodo con aggiunta di urea questa viene decomposta.

Il *b. vulgare* è molto patogeno e la sua azione è tale non già per la produzione di una tossina e di una proteina ma perchè attaccando le sostanze albuminoidee produce una notevole quantità di ptomaine.

Se per cause naturali o artificiali si ottiene un *b. vulgare* che non produca ptomaina, la sua azione patogena cessa; però ove lo si passi da animale ad animale, intrammezando i passaggi con colture sui comuni substrati, allora può produrre ascessi icerosi.

Il *b. vulgare* è anche stato ritenuto causa di setticemie, ma raramente.

Il *b. vulgare* ha ricevuto molti altri nomi, o almeno tutto fa credere che molti germi i quali sono stati denominati in altro modo si possano perfettamente identificare con esso, p. es.:

*Parobacillus liquefaciens septicus* che decompone l'urea;

il *b. albus cadaveris*:

il *b. septicus* di Pansini, trovato negli sputi di tubercolosi;

il *b. cholerae infantum*;

il *b. murisepticus pleomorphus* isolato dal pus (poco resistente al Gram, patogeno nei sorci);

il *b. eclampsiae* trovato dal Gerdes in casi di eclampsia.

Ad esso si riportano poi i seguenti germi, tra gli altri:

il *proteus septicus* trovato nell'intestino di bambini: coltivato su patate, dà una patina bruna.

il *proteus pyogenes foetidus* o *liquefaciens* creduto causa di otiti: non coagula il latte e su patate dà una patina gialla;

il *proteus pyogenes putidus septicus*: fu isolato da casi di meningite dopo morte; dà colonie rotonde, a bordi netti e fluidifica poco.

il *b. IX di Pansini*: su patate dà una patina prima giallognola, poi verdastra.

il *b. havaniensis liquefaciens* isolato dall'intestino di malati di febbre gialla dallo Sternberg: questo sull'agar formerebbe una patina bruciccia e si svilupperebbe poco o nulla sulle patate;

il *b. album putidum* forma colonie sottili non digitate, circondate da un alone trasparente;

il *b. sulfureus*: si isola da acque minerali, ove può produrre notevoli quantità di  $H_2S$ ; non coagula il latte;

il *proteus fluorescens* isolato da casi di nefrite con ittero, capace di dare un po' di fluorescenza nelle infusioni in gelatina e sull'agar e sulle patate una patina rossa.

Al gruppo dei protei il Flügge unisce altri germi, incompletamente descritti, i quali sono stati citati come patogeni per vari animali, trovati in casi di dissenteria, di leucemia, di gangrena, di febbre gialla, in ascessi gengivali ecc.

I più importanti sono:

il *b. meningitidis aërogenes* ('entanni): formerebbe colonie a margherita e su patate una patina giallo-bruna;

il *b. pneumoniae agilis* che fu creduto causa della polmonite consecutiva alla recisione del vago;

il *b. pneumoniae liquefaciens* che produrrebbe una polmonite nei bovini, fluidifica forse come il *meningitidis aërogenes*.

È però discutibile che questi e molti altri non elencati siano dei protei (1).

## V. — Batteri del tifo, del colon e della dissenteria.

Il *b. coli* e il *typhi* sono stati messi in un unico tipo dal Flügge, a cui ora si può aggiungere il *b. dysentericum*.

Il gruppo cui essi appartengono si può riannodare con alcuni dei precedenti.

Si ramoda coi capsulati: infatti alcuni autori, come il Roux p. es., collocano il *b. lactis aërogenes* accanto al *b. coli*: invece Lehmann e Neumann lo separano da questo per solo fatto che esso non possiede ciglia, mentre invece il *b. coli* secondo essi le possederebbe.

Si riannoda coi protei: infatti alcuni autori senz'altro ritengono vi siano dei germi i quali mentre hanno tutti i caratteri del *b. coli*, fluidificano però la gelatina: cioè vale per il *b. punctatum* il quale fluidifica la gelatina a coppa, per il *b. annulatum* che invece la fluidifica a foro, per il *b. foetidum liquefaciens* il quale ha tutti i caratteri biologici del *b. coli*; per il *b. cloacae*, per il *b. pneumoniae liquefaciens* o *b. agilis* (?).

(1) Molti di questi germi appartenenti al gruppo del *b. vulgare* fino dalle prime ricerche sui batteri fatte dal Müller venivano compresi sotto la denominazione di *monas* o *b. thermo*. Oggi però per *b. thermo* si intende un germe che vive sulle foglie di piante acquatiche, molto grosso e lungo per cui sarà probabilmente sporigeno (sebbene il Beyerinck che l'ha studiato non l'abbia trovato spore) e quindi un *bacillo* e non un batterio.

Il gruppo, secondo studi recenti, pare inoltre abbia anche rapporti con quello delle setticemie emorragiche, col quale però si collega più per l'intermedio del *b. typhi* che del *b. coli*: infatti il *b.* della setticemia spontanea dei conigli, il tifo topi e l'Hogeholera ricorderebbero, pel loro modo di svilupparsi, il *b.* del tifo.

Non ostante ciò, è certo che il gruppo del *b. coli* e del *b. typhi* è così perfettamente individualizzato che possiamo considerarlo come costituito da una catena di germi ai cui estremi stanno da un lato il *b.* del tifo, e dall'altro il *b. coli*, e fra di essi come anelli di congiunzione i similtifi o paratifi o pseudotifi (V. pag. 389).

## B. del tifo.

### Caratteri morfologici.

È un bastoncino sottile, alcune volte piuttosto corto, altre volte (fig. 185) lungo, ad estremi arrotondati (però sempre più lungo che largo), alle volte articolato: talvolta può trovarsi riunito in filamenti, e ciò specialmente quando si coltiva su patate acide o sulla gelatina di malto e, sebbene più di rado in agar e brodo: i filamenti non si ramificano. In determinate condizioni colturali presenta forme degenerative, sotto forma di bastoncini strozzati (a salsiccia); aggiungendo ai substrati dei sali di litio si possono osservare forme eteromorfiche ossia bacilli grossi e lunghi, oppure sottili, i quali prendono male i colori, filamenti, ecc.

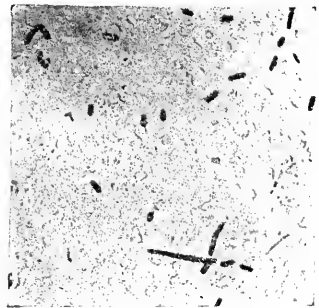


fig. 185.

Le forme normali possiedono degli spazi chiari nel loro interno, interpretati una volta come vacuoli, ma che probabilmente sono grassi: agli estremi invece v'è addensamento del protoplasma, colorabile specialmente quando il *b. typhi* provenga da colture su patate o su siero di sangue.

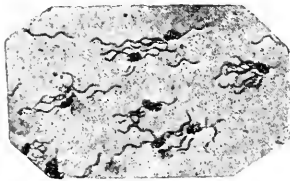


fig. 186.

Esso è molto mobile, ed ha le ciglia disposte tutte attorno al corpo batterico (peritrico) molto lunghe (fig. 186): secondo alcuni partirebbero da una capsula, che circonda il germe; capsula che così come si può

colorare usualmente è di forma tubulare; alle volte però, benchè di rado, è ovalare.

Non resiste al Gram; è asporigeno, ed anaerobio facoltativo.

### Caratteri colturali.

Esso si sviluppa bene in tutti i substrati, e l'optimum di temperatura oscilla fra i 35°-37° C., però può svilupparsi bene fino ai 41°. Qualora lo si ponga a temperatura più elevata, cresce lentamente; in ogni caso non si sviluppa se è posto oltre la temperatura di 45°,5—46° C. Si sviluppa bene anche a temperatura bassa (10° C.), purchè però lo si coltivi sempre su un determinato substrato.

Il suo modo di sviluppo una volta veniva ritenuto caratteristico, per cui coi soli caratteri colturali si pretendeva poter far diagnosi di tifo, per esempio in un'acqua; ma oggidì si sa che ciò è impossibile.

In *gelatina a piatto*, forma due specie di colonie: trasparenti le une e sono le più frequenti, opache le altre. Le colonie trasparenti sono poco rilevate, hanno aspetto ceruleo o madreperlaceo, e viste al microscopio appaiono come intramezzate da una serie di solchi regolari che sembrano partire da un solco principale (colonie a foglia di vite o di fico, a montagna di ghiaccio) (fig. 187).



fig. 187.

Questi solchi però possono mancare o essere pochi, ovvero può mancare il solco mediano; ma solo eccezionalmente la colonia è omogeneamente costrutta: in ogni caso se si ha l'accorgimento di fare un passaggio su patate e poi di nuovo in gelatina, si possono riottenere le colonie solcate.

Le colonie opache sono rotondeggianti bianco-sporche, a bordi regolari, mucose, opache: viste al microscopio granulose e alle volte nucleate; quelle superficiali hanno la periferia più appiattita, per cui sembrano circondate da un alone periferico.

In *gelatina per infissione* si forma un nastrino sottile omogeneo, che raramente è granuloso: più raramente può presentare qualche barba che in tal caso, è sempre in alto: in superficie forma una patina sottile, cerulea velamentosa, trasparente, a contorni lobati, poco diffusa.

Su agar a becco di flauto forma una patina prima sottile, cerulea, omogenea, umida, senza caratteri speciali e poi più spessa, grigio-sporea (fig. 188).

L'acqua di condensazione è leggermente torbida con un lievissimo deposito.

Su patate forma una patina sottile quasi invisibile che si avverte solo a luce obliqua: toccandola con un ago, appare come impigliata nel tessuto della patata.

Solo alcune volte la patina è ben visibile ciò che può dipendere dalla qualità o reazione della patata, ovvero dalla provenienza del b. del tifo.

Il brodo viene uniformemente intorbidato: vi si forma un sedimento granuloso; in superficie non si produce un velo, che eccezionalmente.

### Proprietà biologiche.

Il b. del tifo non produce pigmento, però coltivato sulla gelatina (secondo Babes in determinate condizioni) darebbe luogo subito al di sotto del menisco ad una colorazione bruna.

Non pare che produca enzima inversivo, non possiede l'enzima proteolitico, nulla si conosce dall'enzima diastatico; certamente non possiede l'enzima emulsivo, cioè non decompone l'amigdalina.

Su terreni zuccherati, il più delle volte produce  $H^2S$ , e decompone gli idrati di carbonio producendo acidi, di cui il più abbondante è il lattico levogiro.

Pare trasformi i nitrati in nitriti, e questi in ammoniaca: non produce che eccezionalmente indolo.

È patogeno per l'uomo: però non si è mai riusciti a riprodurre il tipico tifo negli animali ma enteriti, setticemie, ascessi. Ancora quindi è sconosciuto il suo modo di comportarsi nel produrre l'infezione tifosa. Secondo alcuni, entrato per la bocca si localizza nell'intestino, e passa quindi in circolo, localizzandosi in definitiva nella milza, ove produrrebbe le sue tossine.

Sanarelli ha emesso l'ipotesi che si tratti di un'infezione delle vie linfatiche, cioè il b. del tifo si localizzerebbe nelle ghiandole linfatiche, ove produrrebbe una tossina la quale verrebbe eliminata dalla mucosa intestinale e sarebbe dotata di un energico potere necrotico. Il Paladino, studiando il contenuto tossico del bacillo, ha potuto estrarre una nucleina e un nucleoproteide: quest'ultimo,



fig. 188.

inoculato negli animali da esperimento per via endovenosa produrrebbe la coagulazione del sangue, necrosi e ingorgo delle placche del Peyer.

Gli altri veleni studiati antecedentemente nelle brodocolture (tifotossina, tifoptomaina, ecc.) sembra che non siano prodotti dal batterio, ma inerenti a modificazione del terreno colturale.

### Diagnosi.

**ISOLAMENTO.** — Il b. del tifo si isola dall'organismo ammalato, dall'acqua, dal latte, dalle feci, ecc.

La tecnica di laboratorio si arricchisce giornalmente di metodi di coltura per lo isolamento del bacillo di Eberth, i quali, secondo i vari autori, vorrebbero essere realmente specifici, ossia adatti esclusivamente o quasi alla ricerca di questo germe.

Ma la molteplicità dei procedimenti, il bisogno che ognuno sente di ricercarne dei nuovi, fanno senz'altro pensare che ancora si sia lungi dallo avere scoperto un metodo realmente adatto, un metodo che possa ritenersi specifico. E così è realmente.

Per isolarlo si mettono a profitto dei diportamenti speciali del bacillo verso gli acidi, gli alcali, le soluzioni disinfettanti, coloranti, verso terreni peculiari di coltura; ma il più delle volte questi procedimenti portano a risultati negativi, mentre per converso lasciano scoprire altri germi tra cui, specie se trattasi di feci e di acque, il *b. coli* *c'* è sempre. La presenza di questo germe si dice quindi essere di ostacolo allo isolamento del bacillo di Eberth e si giunge sino a ritenere che ove esso si trovi insieme al bacillo di Eberth, questo non si possa isolare.

I principali procedimenti sono i seguenti:

1° per l'isolamento del bacillo di Eberth dalle feci e dall'urina.

a) per mezzo delle semine a piatto in gelatina di Remy (V. Vol. I, pag. 252).

Le colonie del b. del tifo appaiono dopo due giorni: le profonde, di colore madreperlaceo, sono più piccole che le colonie del coli, ma distinguibili ad occhio nudo; le superficiali, generalmente sono visibili solo al 3° giorno.

A principio esse ricordano l'aspetto di muffe, più tardi si estendono, diventano più madreperlacee, e possono allora raggiungere le dimensioni di una moneta da 50 centesimi. Va notato però che certe colonie superficiali hanno qualche volta un aspetto particolare, che le fa sembrare fine gocce d'acqua; che le colonie del coli e quelle del tifo, quando si rifanno delle piastre di gelatina, riproducono colonie di altre varietà ed inversamente; e che gli stafilococchi, streptococchi e tutti i microrganismi in genere si sviluppano in questa gelatina coi loro caratteri speciali.



Per l'isolamento delle colonie si fa un passaggio in un tubo di brodo che viene messo a 37°. Il giorno dopo si esamina la mobilità dei germi, poi si fa un passaggio in un tubo di gelatina (differenziale o no) lattosata e fatta liquida. Dopo aver agitato, il tubo vien messo in acqua fredda per la solidificazione, poi è portato a 20-22°. In queste condizioni il *b. coli* dà bolle abbondanti dopo 24 ore.

La stessa coltura in brodo serve per la reazione agglutinante, secondo l'A., coll'aiuto di un siero antitifico sperimentale, agglutinante a titolo elevatissimo il bacillo di Gaffky. Vengono considerati come batteri del tifo solo quelli mobili che non danno la reazione dell'indolo, che non fanno fermentare il lattosio, e che sono agglutinati a diluizione fortissima ( $1/_{80000}$ ) dal siero sperimentale.

Con questo procedimento il Remy trovò che il numero dei *b. di Eberth* nelle feci dei tifosi è limitato al principio, poi aumenta al 2° settenario, potendo allora costituire quasi da solo la flora intestinale; esso diminuisce progressivamente al 3° e 4° settenario, ed infine il batterio scompare insensibilmente dall'intestino, od almeno non si riesce ad isolarlo.

Servendosi di questo procedimento culturale l'autore poté anche osservare che i bacilli del tifo isolati dalle feci dei tifosi si riportano ad un solo e stesso tipo: che gli stessi bacilli nel corso del 2° settenario hanno grande energia vitale e di sviluppo, e che invece alla fine della malattia hanno vitalità debole.

Constatò infine in 3 casi nelle feci di tifosi, a sieroreazione negativa, il *b. del tifo*, Avrebbe anche trovato in 2 casi su 12 di altre malattie, un batterio simile a quello d'Eberth ma insensibile all'azione agglutinante del siero antitifico.

*b)* per mezzo delle gelatine di Elsner, di Piorkowski, dell'agar di Drigalski.

Le gelatine di Elsner, quella di Piorkowski e l'agar di Drigalski si prestano meno bene, innestando direttamente in essi il materiale, per isolare il tifo dalle feci e dall'urina. In quella di Piorkowski si ha spesso una fluidificazione rapida per sviluppo di germi fluidificanti, prima ancora di poter notare lo sviluppo delle colonie del *b. di Eberth*. L'agar di Drigalski si arrossa rapidamente per opera del *b. coli*

Meglio si presterebbe la gelatina di Elsner, ma in quest'Istituto è stato osservato che in essa non si ha sempre lo sviluppo caratteristico del *b. del tifo*, che molti similtifi, specie delle acque, formano colonie sottili, esili, a lievi nervature, le quali ricordano perfettamente quella tipica del tifo, e che il *b. coli* si sviluppa spesse volte molto bene anche in primo tempo, ossia con la stessa rapidità di sviluppo che alcune volte ha il *b. del tifo*.

Quindi è preferibile usare questi terreni dopo aver cercato di eliminare molti dei germi che accompagnano il *b. del tifo*.

*2° per l'isolamento del b. di Eberth dall'acqua, dal latte e dai liquidi in genere.*

Si possono centrifugare i liquidi stessi e adoperare il deposito per innestarlo. Quando si possa, è utile filtrare rapidamente il materiale attraverso ad una candela porosa (dall'interno all'esterno) e raccogliere con

pipetta sterilizzata ciò che rimane sul filtro (serve bene all'uopo il mio apparecchio per l'esame microscopico dell'acqua).

I terreni culturali per l'innesto potrebbero essere i soliti terreni solidi gelatinizzati o agarizzati: però a mio avviso è molto meglio servirsi del procedimento seguente:

a) innesto del materiale sospetto nei brodi fenico-cloridrici Parietti (vol. I, pag. 252), escludendo quelli della prima serie che per l'acidità troppo debole, permettono lo sviluppo di altri germi (ad ogni 10 cmc. di brodo si aggiungano 1 goccia del liquido in modo da innestare 10 tubi, l'ultimo dei quali con 10 gocce e il primo con 1);

b) dopo 24 ore di permanenza dei tubi nel termostato a 37°-41°, scelta di quelli che sono uniformemente intorbidati e passaggio dai medesimi di un'ansa del materiale in gelatina di Wurtz e contemporaneamente in gelatina di Piorkowski.

Se si producono lungo l'infissione in gelatina di Wurtz bolle di gas e al tempo stesso nella gelatina di Piorkowski non si sviluppa alcuna colonia a filamenti, si esclude la presenza del b. del tifo. Se invece nella gelatina Piorkowski si hanno colonie che a piccolo ingrandimento sono ramosi o flagellate (fig. 189), grandi quanto teste di spillo, dal cui centro chiaro e splendente

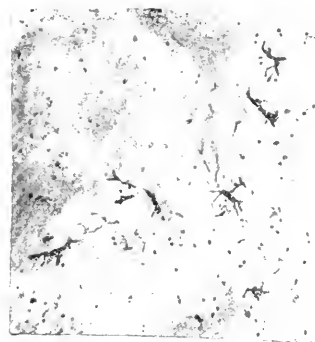


fig. 189.

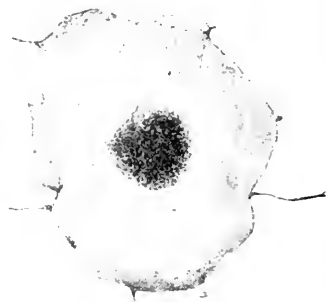


fig. 190.

si dipartono lunghi filamenti, in vario numero (1-2-4) (fig. 190), allora si innestano per infissione in altra gelatina di Wurtz. Se ivi si producono bolle di gas, si esclude la presenza del b. del tifo; se non si ha produzione di gas, si passa all'innesto in brodo glicerinato e poi alla sieroreazione, oppure si può intercalare ancora un passaggio in terreno di Drigalski e Conradi, il cui colore rimane bleu nel caso si sia isolato il bacillo di Eberth, rosso o rosa se si è sviluppato il b. coli o anche qualche similtifo (V. pag. 391).

3° per l'isolamento del b. di Eberth dalle roseole, si segue il procedimento del Neufeld.

Si puliscono bene una o più roseole con etere, si pongono sulle stesse delle gocce di brodo, si incidono le roseole attraverso la goccia di brodo e poi si raccolgono con una grossa ansa di platino e si innestano in una grande quantità di brodo sterile che si pone in termostato. Contemporaneamente si può diluire un'altra ansa di materiale nell'acqua di condensazione di uno o più tubi di agar solidificato a becco di flauto e poi fare delle colture per distendimento. Sia dalle colture in brodo che da quelle in agar, si fanno i passaggi ulteriori in altri terreni come quello di Drigalski e Conradi, e poi si procede alla sieroreazione.

4° per l'isolamento del b. di Eberth dal sangue si può seguire il procedimento di Castellani.

Si estraggono dalle vene 8-10 gocce di sangue e si innestano in 300 cnc. di brodo sterile che si pone a 37°. Sviluppata la coltura, si fanno ulteriori passaggi nei terreni adatti per giungere alla diagnosi del b. di Eberth.

IDENTIFICAZIONE. — Qualunque sia il procedimento seguito per isolarlo, il bacillo di Eberth deve avere i seguenti caratteri costanti:

1° essere mobile :

2° formare colonie sottili, madreperlacee, flagellate in gelatina di Piorkowski;

3° non produrre gas nel terreno di Wurtz ;

4° non coagulare il latte;

5° lasciare bleu il terreno di Drigalski ;

6° non dare fluorescenza nel terreno di Rothberger.

Per essere poi certi che si tratta veramente del bacillo di Eberth è assolutamente necessario procedere alla sieroreazione.

Se si adopera il siero di tifosi è necessario prelevarlo quando siano già presenti in circolo le agglutinine, e cercare di ottenere il fenomeno aggiungendo il siero alla brodocoltura o all'emulsione, in tali proporzioni che non lascino adito a dubbio.

1. *Rapporti tra siero e coltura.* — I numerosi lavori che, dopo la prima pubblicazione di Vidal del giugno 1896, si occuparono del fenomeno dell'agglutinamento, ci hanno dato, in riguardo alla diagnosi del tifo, al primo apparire ed allo scomparire del fenomeno stesso, principi informativi che debbono ritenersi inappuntabili.

L'utilità diagnostica è stata pienamente messa in chiaro in quanto che oggi è ammesso generalmente che la reazione *Gruber-Vidal* sia un ottimo mezzo per la diagnosi del tifo addominale: i dubbi sollevati in principio in riguardo alla virulenza, alla capacità di mobilità ed all'età delle colture del b. del tifo non sono tanto gravi, poichè s'è stabilito che tanto i batteri virulenti quanto quelli che lo sono meno, danno il fenomeno dell'agglutinamento quando vi si aggiunga il siero di un tifoso. Certo le colture è meglio che siano di 16-20 ore: peraltro si può sperimentare pure con colture più giovani.

Ma non vi ha dubbio che è necessario di precisare esattamente il rapporto tra siero e coltura.

E ciò è tanto più necessario, secondo Köhler, perchè in qualche caso si trova che il siero di individui non tifosi ha un potere agglutinante abbastanza elevato; perciò egli ritiene l'agglutinamento positivo (ordinariamente si suole ritenere per « positivo » l'apparire di 3-4 mucchietti evidenti al microscopio) quando lo si abbia nel rapporto di concentrazione di 1 a 50, e meno positivo quando esso sia di 1 a 40: ciò quando si voglia accertare trattarsi di tifo.

2. *Comparsa della reazione agglutinante nel siero dei tifosi.* — Nella maggioranza dei casi compare verso la fine del primo settenario o nel corso del secondo settenario. Vi sono però casi nei quali si verifica più tardi, perfino nella convalescenza, Quest'ultimo fatto è molto importante a tenersi in rilievo. Come ben dice il Mariotti, bisogna tenere presente tale possibilità prima di concludere che in un dato caso la sierodiagnosi sia negativa e prima di gettare il discredito su questo mezzo.

Certo che, rara essendo la sierodiagnosi positiva nel primo settenario, sono giustificate le conclusioni tanto del Fiocca quanto del Mariotti-Bianchi per il suo limitato valore nella diagnosi precoce del tifo.

3. *Durata della reazione agglutinante.* — La durata della reazione del potere agglutinante si mantiene per diverso tempo nel siero degli individui guariti: il Mariotti l'ha vista scomparire così dopo 15 come dopo 118 giorni, ecc.

La difficoltà, del resto, di seguire gli individui non può ancora condurre a stabilire delle statistiche che diano dei risultati completi.

4. *Dipartimento del siero di tifosi verso altri germi.* — Un'altra questione che è stata trattata da molti autori è quella che si riferisce alla possibilità che altri germi vengano agglutinati dal siero di individui tifosi. Il Köhler lo afferma senz'altro e aggiunge che tale fatto può succedere specialmente in rapporto al *b. coli*.

Io, riferendo le prime osservazioni del Köhler fatte insieme a Schöffler, erediti di poter esprimermi come segue:

Se questi autori trovarono che stipiti coli-bacillari isolati dalle feci venivano agglutinati dal siero di individui anche infermi di tifo, ciò non implica contraddizione ai risultati della sieroreazione, poichè può benissimo darsi nello stesso individuo tifoso e l'infezione da tifo e quella da coli. Soltanto potrebbe un tal riferire condurre a errori nella diagnosi del germe; ma ciò non può succedere in pratica, poichè se il bacillo di Eberth ha caratteri morfologici e culturali che non permettono con certezza di differenziarlo da alcuni tifosimili, lo stipite coli-bacillare invece ha caratteri tali che facilmente lo fanno differenziare, come per esempio la proprietà gasogena, ecc. Dato quindi un siero che agglutini e coli e tifo e dato un germe che possenga tutti i caratteri negativi del coli e positivi del tifo, se questo viene agglutinato non si potrà interpretare come coli, ma come tifo. Del resto in questi casi si può benissimo ottenere nei conigli un siero agglutinante per mezzo di colture tifiche, col quale saggiare il batterio in questione.

Del resto è anche dimostrato, e lo stesso Köhler lo riferisce, che il siero di individui normali può agglutinare il *b. coli*; fa meraviglia quindi che il siero di un tifoso, oltre possedere la proprietà di agglutinare il *b. di Eberth*, possa agglutinare il *b. coli*?

Certo però coloro i quali si sono occupati dell'argomento, in genere sono d'accordo nel ritenere che l'agglutinamento del *b. coli* per mezzo di siero di tifoso avviene nella maggioranza dei casi in proporzioni più deboli: ciò però non esclude il fatto inverso (V. pag. 394-395).

Il Courmont ed il Lesieur, per es., trovarono il siero di 22 tifosi agglutinante bensì il *b. coli* ma debolmente, tanto da fare ciò non ostante concludere che il siero dei tifosi ha in genere un'influenza trascurabile sul *b. coli* e che la reazione per intensità non è mai paragonabile a quella che si ha per i batteri tifici.

5. *Dipartimento del siero di individui affetti da altre malattie verso il b. di Eberth.*

Dal punto di vista pratico hanno maggiore importanza quelle ricerche dalle quali risulta che individui affetti da altre malattie possono possedere un siero il quale agglutina in alto grado il *b. di Eberth*.

Alcune di queste ricerche non hanno basi di fatto ben accertate, altre invece le presentano: tra queste ultime meritano di essere ricordate quelle del Köhler sugli itterici. Egli avrebbe trovato che il siero di questi individui possiede un alto potere agglutinante: ciò gli ha fatto pensare ai lavori fatti sulla produzione artificiale del fenomeno dell'agglutinazione (in ispecie a quello del Malvoz) che cioè delle sostanze chimiche possono produrre nei sieri il fenomeno dell'agglutinamento. Egli perciò si indusse a provocare ittero nei cani mediante le-

gatura del coledoco e trovò che dopo tale legatura il siero dei cani, che precedentemente non agglutinava il b. di Eberth, lo agglutina.

Tale fatto, secondo l'A., dipende dal perchè gli elementi della bile si diffondono nell'organismo, tanto è vero che fissando per sutura la cistifellea nell'intestino, il potere agglutinante del siero diminuisce e poi scompare.

Lo stesso A. è poi anche riuscito a dimostrare che è l'acido tanrocolico della bile quello che è più efficace per ottenere l'agglutinazione artificiale. Le iniezioni d'acido tanrocolico conferirono di frequente, ma non costantemente, potere agglutinante al sangue di animali da esperimento.

Il Marinangeli si è domandato dopo ciò se delle sostanze somministrate a dei malati o a degli animali non determinassero nel sangue di questi, proprietà agglutinanti, tanto più che il Malvoz, il Memmo e l'Altobelli avevano osservato che sostanze chimiche (vesuvina, safranina, acidi, sali) agglutinavano in vitro il b. di Eberth.

L'A. avrebbe trovato però che la naftalina, l'antipirina, il bismuto, la saccarina, l'esalina, la lattofenina, il solfofenato di chinino, non impartiscono ai sieri delle cavie alcun potere agglutinante. Solo la resorcina avrebbe tale proprietà; ma non si tratterebbe di un fatto specifico per il solo b. del tifo, perchè dal siero delle cavie, inoculate con la stessa resorcina, verrebbe agglutinato anche il b. coli e il vibrione del colera.

Se si adopera il siero di animali immunizzati verso il b. di Eberth, l'animale che più si presta è la cavia.

Il Fiore ha a tal uopo studiato l'azione:

- 1° del siero di cavie in preda all'infezione tifosa;
- 2° del siero di cavie inoculate con coltura di tifo uccisa col calore;
- 3° del siero di cavie inoculate con estratti nucleo-proteidici del b. di Eberth;
- 4° del siero di cavie inoculate col b. di Eberth non virulento;
- 5° del siero di cavia immunizzata.

Ed è venuto a queste conclusioni:

1. Per dimostrare le proprietà agglutinabili del b. di Eberth non è indifferente servirsi dei sieri degli animali in preda ad infezione, o inoculati con brodculture di tifo morto, o con gli estratti nucleo-proteidici, o immunizzati.

2. L'agglutinamento può non essere accompagnato dalla chiarificazione delle brodculture, ma rendersi evidente soltanto a goccia pendente.

3. Alcuni sieri diminuiscono grandemente la proprietà di agglutinare il b. di Eberth, e sono quelli degli animali inoculati con ripetute quantità di estratti nucleo-proteidici, senza aspettare che l'animale si rimetta in peso.

4. Non è la stessa cosa, *coeteris paribus*, per stabilire se un bacillo di Eberth sia agglutinabile, osservare il fenomeno macroscopicamente nei tubi o in preparati a goccia pendente. A giudicare dalle prove in vitro può infatti accadere di credere un germe non agglutinabile, quando invece esso si è dimostrato tale dalle prove a goccia pendente: il che porterebbe a diagnosticare per similtifo un germe che rappresenta il vero b. di Eberth.

**DIAGNOSI DIFFERENZIALE COI SIMILTIFI.** — Nell'ambiente è molto facile trovare dei germi che hanno alcuni caratteri del tifo e altri del coli: sono questi i similtifi che oggidì si possono distinguere nei due grandi gruppi dei *b. similtifi propr. detti* (quelli che più si avvicinano al b. del tifo); e dei *b. similtifi* (quelli che più si avvicinano al b. coli).

Tenendo presenti i caratteri biologici seguenti: produzione di gas; coagulazione del latte; produzione di indolo; produzione di acidi; spessore della patina su patate, tanto i similkoli che i similtifi si possono poi dividere in quattro sottogruppi.

*Similkoli:*

- 1° gruppo: batteri che hanno tutti i caratteri del coli, ma non producono acidi;
- 2° gruppo: batteri che hanno tutti i caratteri del coli ma non producono né acidi né patina spessa su patate;
- 3° gruppo: batteri che hanno tutti i caratteri del coli ma ora producono gas ora no. ora coagulano il latte ora no;
- 4° gruppo: batteri che ora producono gas ora no. e per il resto tutti gli altri caratteri sono negativi.

*Similtifi:*

- 1° gruppo: batteri che hanno tutti i caratteri del tifo ma producono indolo;
  - 2° gruppo: batteri che hanno tutti i caratteri del tifo, ma formano una patina spessa su patate e ora producono gas e ora no;
  - 3° gruppo: batteri che hanno tutti i caratteri del tifo, ma ora sono gasogeni ora no;
  - 4° gruppo: batteri che formano una patina spessa su patate.
- Ciò si rileva meglio osservando la seguente

TAB. 26.

Germi	Produzione di gas	Coagulazione del latte	Produzione di indolo	Produzione acidi	Produzione di patina spessa su patate
B. coli . . . . .	+	+	-	+	+
Similkoli . . . . .	1	+	+	-	+
	2	+	+	+	-
	3	±	±	+	+
	4	+	-	-	-
Similtifi . . . . .	1	-	+	+	-
	2	-	-	+	-
	3	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
Tifo . . . . .	-	-	-	-	-

Ora alcuni di questi germi non si riescono a differenziare dal bacillo di Eberth che per mezzo del criterio sierodiagnostico, altri anche per opera di terreni colturali speciali.

a) *Differenziazione per mezzo del criterio sierodiagnostico.*

Volendo servirsi per la diagnosi differenziale, del siero di individui tifosi o di animali immunizzati, è necessario ricordare che, anche il b. di Eberth, trattato con siero dotato di alto potere immunizzante, può non venire agglutinato.

È noto infatti per opera del Saquépée che l'attitudine agglutinante del b. di Eberth è suscettibile di subire delle notevoli variazioni: il tipico b. di Eberth agglutinabile dal siero dei tifosi non si trova cioè costantemente nelle stesse condizioni di agglutinamento; generalmente anzi esso tende a diminuire questa proprietà sino a perderla completamente.

Gli si può far acquistare, chiudendo le brodocolture in tubi e impedendo il contatto con l'aria, mentre io ho ottenuto il medesimo risultato con colture anaerobiche.

D'altra parte il tipico b. di Eberth, secondo Saquépée, può perdere la proprietà di essere agglutinato, quando venga tenuto in contatto con un organismo immunizzato, e per esso con siero di animali immunizzati.

Quindi, quando ci si trova di fronte a un germe che abbia tutti i caratteri morfologici e biologici del tifo e non venga agglutinato dal siero di animali immunizzati o di individui tifosi, prima di affermare che non si tratti di tifo bisogna inocularlo successivamente in animali (4-5 passaggi in cavie) e poi dopo saggiarlo col siero di animali o d'uomo che realmente agglutinano il b. di Eberth. Soltanto dopo queste ricerche si può affermare che si tratta di un similtifo e non di un b. di Eberth.

#### b) *Differenziazione per mezzo dei terreni colturali.*

Sono pochissimi i terreni colturali nei quali i similtifi che più si avvicinano al tifo hanno uno sviluppo caratteristico.

Alcuni differenziano i similtifi inestandoli in latte, il quale non verrebbe da essi coagulato ma modificato nella sua colorazione: diventerebbe cioè bianco sudicio o grigiastro, mentre lo strato cremoso che si forma in superficie a poco a poco si assottiglierebbe.

Altri si possono differenziare facendo piatte nel terreno di Cambier-Tusini (V. Vol. I, pag. 255), dove formerebbero colonie granulose a margini regolari a bordi lobati o lisci, con nucleo o senza nucleo, mentre il b. del tifo formerebbe colonie a bordi irregolari per lo più festonate.

Altri se ne differenziano per mezzo dell'agar di Drigalski.

A tal uopo da brodocolture pure degli stessi con una bacchetta di vetro piegata a squadra se ne preleva una goccia che si striscia sulla piatta. Se si forma una patina rosea e il terreno si arrossa si può escludere la presenza del b. di Eberth.

Finalmente tutti quei similtifi che nel Drigalski si comportano come il b. di Eberth, si possono differenziare inestandoli in agar al rosso neutro di Rothberger (V. Vol. I, pag. 255) fluidificato, solidificando poi subito dopo il materiale sotto un getto di acqua. Il Kayse ha veduto che in questo terreno soltanto il b. di Eberth non dà fluorescenza.

### **B. coli commune.**

Sono bacilli grossi e tozzi, più corti di quelli del tifo (fig. 191); per lo più riuniti a due; essi si filamentano molto più di rado e possono articolarsi: però ogni articolo, a differenza di quanto si

verifica pel b. del tifo, si separa rimanendo coi medesimi diametri, per cui è facile trovare forme vicine a quelle cocciche.



fig. 191.

Nel loro interno i batteri presentano spazi chiari irregolari e addensamento del protoplasma ai poli.

Generalmente il *b. coli* è immobile, però secondo la maggioranza degli autori sarebbe provvisto di ciglia (peritrico e a volte lofotrico). Certo la colorazione della ciglia del *b. coli* è molto difficile, e in uno stipte di *b. coli* a noi è riescita sempre negativa.

Non resiste alla colorazione col metodo del Gram, ed è provvisto di un capsula meglio dimostrabile che nel b. del tifo quando si colora con qualunque dei metodi di colorazione delle ciglia.

#### Caratteri culturali.

Ha un optimum di sviluppo a 37° C.; al di sopra di questa temperatura si sviluppa meno bene, e in ciò differisce dal b. del tifo, il quale si sviluppa bene anche a 41°: però continua a crescere, quantunque stentatamente, anche alla temperatura di 46°-46,5 C.

In *gelatina a piatto* forma colonie opache e trasparenti, le prime più frequenti delle seconde, contrariamente a quanto avviene pel b. del tifo.

Le colonie opache sono rotonde, cupoliformi, a bordi regolari, sollevate (fig. 192). Al microscopio presentano un contenuto o uniformemente granuloso, ovvero un nucleo ben visibile, con o senza cerehi



fig. 192.

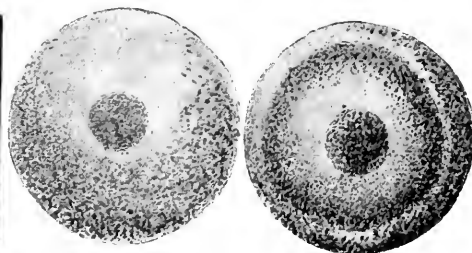


fig. 193.

concentrici; il bordo è ben differenziabile dal contenuto (fig. 193). Le colonie trasparenti sono cerulee e sottili, a bordi irregolari: nel contenuto si possono ritrovare dei solchi, ma sono in numero mi-



nore e più grossolani che nelle colonie del tifo, e inoltre non partono da un solco principale. Alle volte il loro centro è rappresentato da una serie di corpicciuoli rotondeggianti, simili a masse zoo-gleiche.

*In gelatina per infissione* si forma un nastrino denso, bianco sporco e in superficie una patina spessa, prima cerulea, poi bianco-sporea, diffusa, a bordi un po' sinuosi e di consistenza succosa.

*In agar a becco di flauto* si forma una patina visibile, prima a riflessi madreperlacci, poi bianco-sporea, spessa, opaca, diffusa, a bordi irregolari non assottigliati, umida, lucente; l'acqua di condensazione è torbida e presenta un notevole sedimento.

*Sulle patate* si forma una patina visibile, spessa, grigio-sporea, alle volte tendente al gialliccio (nel qual caso la patata assume un colorito bruniccio), poltacea, a superficie regolare.

*Il brodo* viene notevolmente intorbidato in modo diffuso: il sedimento è abbondante; alle volte soltanto si forma un velo in superficie.

*Il latte* viene coagulato dopo 1-2 giorni, alle volte anche prima, e per lo più in blocco.

### Caratteri biologici.

Il *b. coli* non produce pigmenti: però coltivato sulla gelatina di Babes, la colora in bruno formando anche ammassi di cristalli; le patate spesso si colorano in bruno e la patina può divenire gialliccia.

Non possiede l'enzima proteolitico, ma possiede il più delle volte quello diastatico, l'emulsivo e l'inversivo: attacca gli idrati di carbonio e l'urea. Nei terreni zuccherati produce gas ( $CO_2$ ,  $H^2 S$ ,  $H$ ), produce altresì acidi (acetico, formico, lattico destrogiro o inattivo, e talvolta levogiro) e indolo.

Dalle colture in brodo si può ottenere una tossina la quale per lo più agisce solo se si inocula in grande quantità: ha azione flogogena locale e azione generale convulsivante prima, paralizzante dopo.

Dal *b. coli* si ottiene pure una proteina ad azione nevrotossica, la quale ha azione locale e generale più accentuata della tossina.

Negli animali da esperimento produce ascessi (inoculato sotto la cute dell'orecchio del coniglio) e alle volte una setticemia.

### Diagnosi.

ISOLAMENTO. — Per isolare il *b. coli commune* sono adatti tutti i procedimenti comuni e tutti quelli speciali che servono per l'isolamento del bacillo di Eberth.

Nelle piatte si scelgono le colonie rotonde sollevate a cupola, a bordi regolari: si toccano con l'ago di platino e si passano in brodo, latte, gelatina zuccherata e in tutti quegli altri mezzi che servono a mettere in evidenza i caratteri del *b. coli*.

Quando si abbiano dei liquidi o contenenti molti altri germi o poveri di *b. coli*, è però meglio isolarlo col metodo di Abba.

A tal uopo si prende il brodo di Abba già diluito (V. Vol. I, pag. 253), si inquinava con 1-2-5 emc. del liquido sospetto, o con qualche ansa dello stesso, si aggiunge  $\frac{1}{2}$  emc. di fenoltaleina in soluzione alcoolica 1% e poi tanta soluzione saturo di carbonato sodico sino a che compare una colorazione rosea del liquido.

Si pone il materiale in termostato a 37° e dopo 8-10-24 ore, quando il liquido si è decolorato, si toglie. Si tocca con l'ansa di platino il liquido e lo si striscia sopra una piastra di agar sterile (fatta il giorno precedente e tenuta in termostato capovolta per far evaporare l'acqua di condensazione) facendo un giro a spirale dalla periferia al centro. La capsula si rimette in termostato e il giorno dopo, dalle colonie isolate si fanno passaggi nei vari terreni per mettere in evidenza i caratteri del *b. coli*.

**IDENTIFICAZIONE.** — Il *b. coli commune* è facilmente identificabile, perchè è un germe immobile che forma colonie rilevate cupoliformi in gelatina e in agar, che coagula il latte e che dà gas in tutti i terreni, specie con aggiunta di zucchero.

Per essere però sicuri della identificazione è necessaria qualche altra prova sommaria, p. es. l'innesto sotto la cute dell'orecchio di un coniglio (1 emc. di coltura in brodo di 48 ore) come fa l'Abba. Si forma così un ascesso da cui si isola il batterio. Altre prove sono necessarie soltanto quando manchino alcuni dei caratteri fondamentali del batterio, ciò che non è raro accade, in quantochè nel *b. coli* si racchiude un gruppo di forme dotate di proprietà morfologiche e biologiche che subiscono delle variazioni spesso non piccole.

Per ottenere poi un siero specialmente agglutinante per il *b. coli* è utile inoculare il liquido di lavaggio di patine di coli, passato attraverso ad una candela porosa: bastano poche inoculazioni perchè la cavia fornisca un siero dotato di alto potere agglutinante soltanto sul *b. coli* e non su altri germi.

In tutti i modi, il batterio non deve essere agglutinato dal siero di individui tificosi o di animali immunizzati verso il *b. coli* del tifo nelle stesse porzioni in cui è agglutinato il *b. coli* di Eberth.

Qui però va anche notato che il Verney ha fatto la constatazione interessante, che delle cavie trattate col solo *b. coli* non acquistano che un debole potere agglutinante verso questo batterio; invece ne acquistano uno molto elevato se, in precedenza, sono state immunizzate verso il *b. coli* di Eberth, oppure se si praticano delle iniezioni contemporanee di questo secondo germe. Un tal fatto acquisterebbe molta importanza per la patologia, qualora potesse dimostrarsi che si ripete anche per le infezioni naturali dell'uomo. È

notevole anzi la circostanza, che nelle infezioni coliche pure dell'uomo non si è mai riscontrato un potere agglutinante marcato verso il *b. coli*; mentre invece, qualche volta, durante la febbre tifoide se n'è trovato uno elevatissimo (per es. da Gruber e Durham, Biberstein, Widal, ecc.). Le ricerche più sopra riferite lasciano supporre che, in questi casi, si trattasse di un' infezione mista, tipica e colica, di cui la seconda si era sovrapposta alla prima.

**DIAGNOSI DIFFERENZIALE COL B. DEL TIFO.** — Il *b. coli* si differenzia oramai molto facilmente dai batteriologi dal *b. typhi*, poichè al criterio della grandezza, della mancata mobilità, del più rigoglioso sviluppo da parte del *b. coli*, si sono aggiunti un grandissimo numero di altri caratteri, più o meno controllati ed esatti, iquali si possono riunire nei sei gruppi seguenti, secondo Escherich e Pfaundler:

TAB. 27.

Differenze fondate sul diverso potere di riduzione		
terreni di coltura	<i>b. coli</i>	<i>b. typhi</i>
Decotto di patate con idrochinona	scolorazione del substrato divenuto bruno durante la sterilizzazione	nessun cambiamento di colore
Gelatina colorata di Nöggerath	patina pochissimo sviluppata: nessuna decolorazione	patina color viola-vescovo decolorazione del substrato
Agar al sollito di verde malachite ( <i>Marpmann</i> )	patina bianco-grigiastria	patina verde-scura
Id. al lattosio e al bleu di metilene scolorato con potassa ( <i>Robin</i> )	dopo 15 ore appare una colorazione rossa lungo la stria che progredisce rapidamente	si sviluppa e lascia incolore il substrato
Id. fuxinato ( <i>Gasser</i> )	scolorazione dell'agar solo lungo lo strisciamento	dopo 24 h a 39° il mezzo si decolora e si colora la patina in rosso: la decolorazione del substrato e la colorazione della patina è completa dopo due giorni
Id. alla safranina ( <i>Rothberger</i> )	decolorazione in 24 ore	nessuna decolorazione
Id. al verde di metile ( <i>id.</i> )	id.	la parte inferiore diventa bleu-verdastra, la superiore diventa rossa
Id. al verde malachite ( <i>id.</i> )	id.	appena appena attenuato il colore
Id. al verde iolo ( <i>id.</i> )	colorazione bruno rossa e poi bruna	nessun cambiamento
Id. all'indulina ( <i>id.</i> )	sfumatura verde	id.
Id. alla nigrosina ( <i>id.</i> )	id.	id.
Id. al carminio indigo ( <i>id.</i> )	decolorazione in 24 ore	prende una sfumatura verde
Id. al rosso neutro o rosso di tolulene ( <i>id.</i> )	attenua la colorazione e produce fosforescenza	nessuna modificazione
Id. alla fuxina acida decolorata con soda ( <i>Robin</i> )	zona rossa attorno alle colonie	nessun cambiamento di colore

TAB. 28.

Differenze fondate principalmente sul diverso potere  
di attaccare gli idrati di carbonio

terreni di coltura	b. coli	b. typhi
Siero di latte con laccamuffa secondo Petruski	intorbidato e arrossato dopo 2. h (acidità massima % corrispondente a 4-5 % soluz. acida N/10)	deposito al fondo, colorazione bleu (acidità massima % corrispondente al 3% soluz. acida N/10)
Siero di latte artificiale [zucchero di latte e soluzione di albumina d'uovo] (Bordas e Ioutin)	intorbidamento e forte coagulazione dopo 1-3 giorni	intorbidamento senza coagulazione
Brodo epatico e brodo epatico laccamuffato secondo Cesaris-Demel e G. rubonoff)	sviluppo rapido, forte intorbidamento, produzione di acidi, dopo 24 h arrossamento; dopo 48 h colorazione viola e produzione di gas. Le colture anaerobiche si arrossano e poi si scolorano	nessuna produzione di gas, delicato intorbidamento, e poi chiarificazione, dopo 24 h scoloramento, dopo 48 h colorazione rosea. Le colture anaerobiche rimangono intorbidate: prima colorazione rossa e poi scoloramento permanente
Decotto di funghi (Mankowski)	velo bianco-argenteo, secco; gas	frammenti lucenti, trasparenti; senza gas
Soluzione di peptone e mannite con pepsina ed indigo-carminio (Froskauer e Capaldi)	dopo 20 h a 37° reazione ancora alcalina	reazione acida
Soluzione di asparagina e mannite con sali nutritivi (Id)	reazione acida	reazione alcalina
Decotto di lequirity (Kaufmann)	colorazione verde o decolorazione	debole colorazione verde
Brodo di Bleisch	dal 3° al 10° giorno reaz. indolo positiva, odore fecale fetido	reazione indolo negativa (col metodo Salkowski) nessun odore
Acqua peptonizzata 2 % (Salkowski)	reazione della creatinina positiva	reazione negativa
Brodo al glucosio laccamuffato (Germano e Maurea)	arrossamento per produzione di acidi, sviluppo di gas	poca produzione di acidi e tardiva
Brodo al lattosio con creta (Chantemesse e Vidal)	id.	quasi mai gas (però qualche volta sì)
Brodo lattosato con fluorescina (Graziani)	il color giallo del liquido diviene carico: lo stesso perde la sua fluorescenza	il colorito del liquido diviene giallo pallido: rimane la fluorescenza
Liquido di Klopstock	coagula, arrossa e produce gas	coagula, arrossa, non produce gas
Soluzione di albuminato con laccamuffa (Casagrandi)	coagula, arrossa subito e produce gas	non coagula, arrossa lentamente, non produce gas
Gelatina o agar al lattosio con toruasole (Wurtz) per strisciamento	patina abbondante; lungo lo strisciamento il substrato diventa subito rosso, spesso gas	patina sottile; lungo lo strisciamento, rimane a lungo il color bleu
Idem per infusione	id. e produz. di gas lungo l'infusione	id. senza produzione di gas
Agar al 2% di glucosio (Germano e Maurea)	produzione di gas	nessuna produzione di gas
Agar di Drigalski e Conradi	coloraz. rossa del substrato e della patina (?); colonie grandi 2-6 cm. rosiccie non trasparenti	colorazione bleu del substrato e della patina; colonie grandi 1-3 cm. bleu vitree simili a gocce di rugiada (?)

Segue TAB. 28.

Differenze fondate principalmente sul diverso potere di attaccare gli idrati di carbonio

terreni di coltura	b. coli	b. typhi
Agar al brodo di funghi ( <i>Mankowski</i> )	sviluppo rapido di una patina, bianca, spessa, secca	sviluppo lento di una patina rossa, trasparente, umida
Id. colorato con indigocarminio e fuxina ( <i>Mankowski</i> )	colorazione bleu-verde e poi decolorazione del substrato	colorazione bleu-violetta e poi rosso-lampone del substrato
Agar lattosato alla fenoltaleina ( <i>Graziani</i> )	decolorazione del substrato	persistenza della colorazione rosea
<i>Albumine d'ovo al caffè</i> ( <i>Pacini</i> e <i>Municchi</i> )	arrossa subito il substrato verde	non l'arrossa o l'arrossa tardivamente
<i>Albuminato alcalino alla Pacini</i> ( <i>Casagrandi</i> )	id.	id.
<i>Albuminato alcalino alla Drigalski</i> ( <i>Casagrandi</i> )	arrossa	rimane bleu
<i>Albuminato alcalino alla Vurtz</i> ( <i>Casagrandi</i> )	id.	id.

TAB. 29.

Differenze fondate sulla proprietà di dar luogo ai più diversi fenomeni chimici specifici

terreni di coltura	b. coli	b. typhi
<i>Brodo con amigdalina</i> ( <i>Inghileri-Fermi</i> )	dopo 36 ore decomposizione del glucoside in glucosio, acido prussico, aldeide benzoica: fermentazione dello zucchero, acidificazione; odore di mandorle amare	nessuna decomposizione e degli zuccheri: nessuna acidificazione: nessun odore di mandorle amare
Gelatina al 3% di tartrato ferrico	colorazione nera lungo la infissione dopo 40-42 giorni (molto $H^2 S$ )	colorazione nera lungo la infissione dopo 2 giorni
Id. al nitroprussiato di soda ( <i>Olkowski</i> )	colorazione bleu intensa (molto $H^2 S$ )	colorazione bleu leggiera allo estremo dell'infissione (poco $H^2 S$ )
Id. all'acetato basico di piombo	colorazione debolissima nera e tardiva (poco $H^2 S$ )	colorazione nera marcata al 2° giorno (molto $H^2 S$ )
Gelatina all'urea 2% ( <i>Gorini</i> )	dopo 3-4 giorni mucchi di cristalli lungo l'infissione, produzione di gas [ $NH_3$ e $CO_2$ ?]	produzione di granuli uniformemente distribuiti fini e bianchi (cristalli di carbonato di ammonio?)
Id. all'estratto di cardo ( <i>Roger</i> )	patina giallo-ambra e poi bruna	patina incolore
<i>Gelatina al carciofo</i> ( <i>Roux</i> )	patina abbondante e colorazione verde del substrato	nessun sviluppo visibile
Id. all'urina ( <i>Barone</i> )	colonie rotonde cupolate, granulose	colonie festonate
Agar all'urea e al lattosio tornasolato ( <i>Kashider</i> )	dopo 46-48 h il mezzo diventa rosso per produzione di acido e dopo 24 h per la produzione di ammoniaca torna bleu	nessuna modificazione del mezzo o solo tardi leggero arrossamento: in ogni caso mai produzione di ammoniaca
Id. al taurocolato e al rosso neutro ( <i>Grundbaum e Hüne</i> )	colonie rosse con alone di intorbidamento	colonie trasparenti e colorazione del substrato in giallo-ambra od orange

TAB. 30

Differenze fondate sul diverso potere di assimilazione per i gruppi atomici contenenti azoto		
terreni di coltura	b. coli	b. typhi
1. Soluzioni contenenti acido tartarico, cioridrico, solforico, fosfato di $NH_4$ , asparagina leucina, urea; altre contenenti amidi, amidoacidi, glicerina ( <i>Nägeli, Uchinskij, Maassen, C. Frankel, Remy-Sugg</i> )	sviluppo sempre manifesto sempre rigoglioso	sviluppo deficiente o mancante
2. Soluzione di acido amidoadipico ( <i>Fiore</i> )	sviluppo ed alcalinizzazione del substrato	sviluppo e acidificazione del substrato
3. Soluzioni di acido amido butirrico ( <i>Fiore</i> )	sviluppo rigoglioso	sviluppo deficiente
4. Soluzione di asparagina, cloruro di calcio, fosfato monopotassico e zucchero ( <i>Proskauer e Capaldi</i> ) neutralizzata sino a colorazione rosa-violetta del tornasole	sviluppo forte e produzione di acidi	sviluppo deficiente o mancante
5. Id. con acido citrico	sviluppo ed alcalinizzazione del substrato	sviluppo e acidificazione del substrato
<i>Gelatina di Remy e Sugg</i>	patina spessa brunastra	patina sottile incolora
<i>Gelatina al brodo di Cambieri (Tusini)</i>	colonie granulose, omogenee a margini regolati	colonie trasparenti a margini festonati

TAB. 31.

Differenze fondate su la diversa intensità di accrescimento in genere o su diverse proprietà di resistenza verso sostanze antibatteriche		
terreni di coltura	b. coli	b. typhi
Latte ( <i>Sternberg-Dávalos</i> )	buon sviluppo, deposito giallo-paglia, scarso, filamento diviso: germi prevalentemente di forma diplocoocica od ovale	buon sviluppo, deposito bianco-sporco molto abbondante, fiocoso: formazione di tilidie
Siero di coniglio ( <i>Silvestrini</i> )	in genere si sviluppa	si sviluppa male o nulla
Latte di burro	produzione di tanto acido da saturare dal 7 al 42 % di soda $N/10$	
Brodo con acido arsenico	sviluppo sino all'aggiunta di 1,5 % <sub>100</sub> di acido arsenico	sviluppo sino all'aggiunta di 0,01 di acido arsenico
Id. dal 0,02 al 2 % <sub>100</sub> di acido arsenioso ( <i>Thoinot e Brouardel</i> )	si sviluppa	nessun sviluppo
Estratto acquoso di ghiandole salivari ( <i>Mayer</i> )	intorbidamento mediocre, velo bianco, spesso ombreggiato	forte intorbidamento, con velo grigio più spesso ai margini che nel centro
Terreni in cui si è sviluppato il bacillo del tifo: Agar ( <i>Chantemesse e Vidat</i> ), Brodo filtrato allo Chamberland	si sviluppa.	non si sviluppa

Segue TAB. 31.

Differenze fondate sulla diversa intensità di accrescimento in genere e su diverse proprietà di resistenza verso sostanze antibatteriche		
terreni di coltura	b. coli	b. typhi
Brodo colture filtrate allo Chamberland in cui si erano sviluppati: a) lo staf. p. albo, il p. fedito, il b. piociano, il b. fosforescente; b) lo staf. p. aureo, il b. del colera dei polli, il pneumobacillo, lo spirillo di Miller	si sviluppa  si sviluppa	non si sviluppa  si sviluppa pochissimo
Mosto di birra ( <i>Gualdi-Faelli</i> )	si sviluppa	non si sviluppa
Gelatina al mosto di birra	sviluppo rigoglioso sotto forma di una patina spessa, brunastra, più o meno estesa, a margini ondulati	sviluppo delicente
Id. all'estratto di tiroide ( <i>Kopf</i> )	sviluppo rigoglioso: formazione di una patina spessa, piegata	sviluppo deficiente: patina velamentosa appena visibile
Id. all'estratto di pancreas ( <i>Koltr</i> )	id.	id.
Id. al maltosio ( <i>Malvoz</i> )	patina sottile appena visibile	patina spessa, rigogliosa
Gelatina all'acido citrico e al violetto di metile ( <i>Uffelmann</i> )	nessun sviluppo o appena visibile	dopo 48 ore colonie grandi 4 cm. $\frac{1}{2}$ , con apparenza bleu, granulate
Id. al decotto di patate ( <i>Holz</i> )	nessuno sviluppo o scarso	colonie trasparenti, piane, finamente solcate, di notevole grandezza
Id. con Jk ( <i>Ellsner</i> )	dopo 48 h colonie grandi brune caratteristiche	colonie somiglianti a gocee d'acqua finissimamente granulose.
Id. all'acqua di malto ( <i>Malvoz</i> )	colonie irregolari rotonde bluastre e traslucide	colonie delicate
Id. di Grimbert	colonie dopo 48 h grosse, granulose, rotonde	colonie trasparenti finamente granulose, simili a goccioline di rugiada
Agar al decotto di patate con solfato di chinino 1‰, acetato di bario 2,5‰ ( <i>Ellsner</i> )	sviluppo	nessun sviluppo
Id. 0,5‰, gelatina 5‰ ( <i>Strodart</i> )	piccola patina nel punto di inoculazione	rapida diffusione con interbidamento del substrato
Id. all'acqua di ghiandole salivari ( <i>Mayer</i> )	colonie bianche spesse	colonie grigie più spesse alla periferia

TAB. 32.

Differenze fondate sulla diversa mobilità (?)		
terreni di coltura	b. coli	b. typhi
Urina al 3,3‰ di gelatina e al 0,5‰ di peptone ( <i>Piorkowski</i> )	accrescimento come nella gelatina comune; sviluppo prevalentemente di colonie senza prolungamenti o con prolungamenti brevi e grossolani e solo all'8° giorno	a accrescimento lento: formazione di prolungamenti caratteristici, fini, sottili; intreccio a radice e colonie sfalciate senza centro, dopo 36 ore
Liquido di Cambier gelatinizzato al 3,3‰ (secondo <i>Tusini</i> )	colonie cupoliformi	colonie festonate

DIAGNOSI DIFFERENZIALE CON ALTRE FORME DI *B. COLI*. — Tenendo presenti la mobilità, la produzione di gas, la proprietà di dare o no indolo e quella di coagulare o no il latte, si distinguono dal *b. coli commune* alcune forme, isolate dalle feci o dall'intestino o da organi di malati, come si può rilevare dal seguente quadro:

TAB. 33.

G e r m i	Mobilità	Gas	Indolo	Coagula- zione del latte
<i>B. coli commune</i> . . . . .	—	+	+	+
<i>B. coli (intestinale)</i> . . . . .	+	+	+	—
" . . . . .	—	+	+	—
" . . . . .	+	—	—	—
<i>B. dell'endocardite</i> . . . . .	+	+	+	—
<i>B. dell'infezione urinaria</i> . . . . .	+	+	—	+
<i>B. dell'enterite follicolare</i> . . . . .	+	—	+	+
<i>B. alcaligeno fecale</i> . . . . .	—	—	—	+

Anche dall'acqua sono state isolate delle forme di *b. coli*, per lo più alquanto mobili, che in base agli stessi dati si vorrebbero differenziare fra di loro, come risulta per le quattro seguenti:

TAB. 34.

B coli	Mobilità	Gas	Indolo	Coagula- zione del latte
1	+	—	+	+
2	+	+	—	—
3	+	—	+	—
4	+	—	—	—

Si differenziano poi ancora alcune forme di batteri che si mettono in relazione col *b. coli* e che sono causa delle così dette infezioni *colibacillari* (colibacillos) negli animali cioè (Nacard e Leclainche):

la diarrea dei vitelli;

la setticemia dei vitelli di Thomassen;



- la setticemia dei polli e dei tacchini di Lignières e Martel;
- la setticemia dei fagiani di Klein;
- la setticemia dei piccioni di Sanfelice;
- la psittacosi o setticemia dei pappagalli;
- la corizza gangrenosa dei bovini.

Il più importante, perchè può determinare una malattia mortale nell'uomo, è il *B. DELLA PSITTACOSI*.

Il Nocard ottenne dal midollo delle ossa delle ali dei pappagalli morti durante una epidemia, delle colture pure di un batterio molto corto e grosso, cogli estremi arrotondati, mobilissimo, sviluppantesi nei comuni terreni di coltura, purchè neutri o leggermente alcalini, anaerobio facoltativo, non fluidificante la gelatina, non coagulante il latte, che non produceva indolo, non faceva fermentare il lattosio, non resisteva al Gram, non si sviluppava dove aveva vegetato il *b. del tifo*.

Esso era molto patogeno; infatti bastavano piccole quantità di colture inoculate nel peritoneo o nelle vene per uccidere i topi, le cavie, i conigli ed i polli. Esso era patogeno, del resto, anche per la via digerente: però occorrevano da 2 a 15 giorni perchè gli animali morissero. All'autopsia il Nocard trovò sempre gravi lesioni da setticemia emorragica, e gli fu possibile isolare lo stesso germe in coltura pura dagli organi.

Non tutti gli osservatori però sono d'accordo sull'etiologia della psittacosi: vari hanno trovato il diplocooco di Fränckel.

Il Palamidessi, che ha paragonato le diverse colture, dice che si tratta sempre di bastoncini molto corti o di cocchi allungati, che si sviluppano in tutti i terreni, che non fondono la gelatina, non coagulano il latte, non fanno fermentare il lattosio, sono mobili, non colorabili col Gram e patogeni per tutti gli animali, meno che per le cavie, inocolandoli nel peritoneo.

Il Gilbert e il Fournier trovarono il *b. del Nocard* anche in uomini affetti da psittacosi, virulentissimo per i topi e per i piccioni.

Il Nicolle trovò infine che il siero di sangue degli ammalati agglutinava il *b. di Nocard*: però in un caso trovò positiva la sieroreazione anche col *b. typhi*; negativa fu sempre col *b. coli*.

### B. dissenterico.

Trovato nel 1896 dal Celli in Egitto e in Italia, ritrovato nel 1898 da Shiga nel Giappone, nel 1900 dal Kruse in Germania, è un germe che ha alcuni caratteri propri del *b. coli* e altri del *b. typhi*.

È alquanto più grosso in genere del *b. coli*, per lo più è isolato, di rado a due (fig. 194) e più di rado a catena; è uniformemente colorabile, salvo in alcuni casi in cui si colorano piuttosto i poli: non resiste al metodo di Gram.



fig. 194.

Non ha ciglia, ma è dotato di un movimento oscillatorio molto più vivace di quello di altri germi. Non produce spore ed è anaerobio facoltativo, sebbene si coltivi meglio in aerobiosi.

### Caratteri colturali.

Nei terreni comuni si sviluppa bene a 37° C., meno bene al disopra di questa temperatura: cessa di svilupparsi a 43° C.

*In gelatina* a piatto forma colonie di due tipi, opache e trasparenti, le quali, a differenza di quanto si osserva pel coli e pel tifo, si equivalgono numericamente. Le colonie trasparenti sono sottili, cerulee, a contorni irregolari, lobate: viste al microscopio appaiono omogeneamente e finamente granulose, ora sì ora no nucleate, quasi mai solcate (fig. 195). Le colonie opache sono piccole, rotondeggianti, cupoliformi, grigio-opache, a bordi depressi, senza alcun carattere speciale (fig. 196).

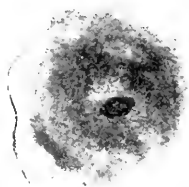


fig. 195.

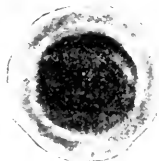


fig. 196.

*In gelatina per infissione* si sviluppa un nastrino sottile, omogeneo, biancastro, e in superficie una patina sottile, cerulea, più diffusa di quella del b. del tifo: essa

assume un aspetto alquanto succoso, simile a quella del b. coli, dopo molto tempo e non sempre.

*Su agar a becco di flauto* forma prima una patina sottile, cerulea, con riflessi madreperlacci, uniforme, umida, diffusa, e poi più spessa, grigio-sporea, come quella del b. del tifo: l'acqua di condensazione è un po' torbida, il sedimento è scarso.

*Su patate* forma generalmente una patina sottile, esile, come quella del b. del tifo: però vi sono forme che la producono succosa e spessa come quella del b. coli: è di colorito bianco-sudicio tendente al grigiastro.

*Il brodo* è intorbidato uniformemente con sedimento scarso; non vi si produce un velo: solo nelle colture molto vecchie, nel punto di contatto fra brodo e tubo, si nota un cerchio biancastro.

Generalmente non coagula il latte e non produce gas.

### Caratteri biologici.

I caratteri biologici non sono tutti noti: certamente non possiede l'enzima proteolitico, l'inversivo, l'emulsivo, il diastatico.

Sui terreni zuccherati si comporta presso a poco come il *b. del tifo*, attaccandoli poco, e quindi produce pochi acidi. Non produce indolo in genere: alle volte solo tracce.

Spetta al Celli aver dimostrato che possiede proprietà tossiche diverse da quelle del *b. coli commune* e del *b. del tifo*.

Esso produrrebbe una vera tossina capace di uccidere i giovani gatti e una proteina estraibile, p. es., col metodo del Lustig per la proteina pestosa.

Forse è un nucleoproteide: inoculato produce ascessi e necrosi per quanto si riferisce all'azione locale, e marasma per quanto si riferisce all'azione generale.

La inoculazione nel peritoneo di giovani gatti della tossiproteina, che si può ottenere mediante la precipitazione delle brodoculture coll'alcool, ne produce la morte con fenomeni di paralisi, previo vomito ed eccitazione dei riflessi: all'autopsia si riscontrano chiazze emorragiche nel crasso e nella parte inferiore del tenue.

Inoculando le colture nelle cavie e nei conigli, questi muoiono con fenomeni setticoemici, e, a seconda della via di inoculazione seguita, presentano ascessi, peritoniti, pleuriti.

Il *b. dissenterico* è coltivabile da tutti gli organi e nel sangue delle cavie spesso si trova già 2-3 ore dopo l'inoculazione.

#### **Diagnosi del *b. dissenterico*.**

**ISOLAMENTO.** — L'isolamento del bacillo dissenterico si fa dalle feci dei dissenterici preferibilmente prendendo i piccoli frammentini di muco che si stemperano in brodo sterile. Dal liquido ottenuto si prelevano con l'ansa di platino piccole quantità con le quali si fanno delle piatte in gelatina ed in agar ordinario.

Dalle colonie che hanno un aspetto pianeggiante a bordi irregolari senza venatura nella loro struttura, con o senza traccia di una nucleazione, si fanno trapianti nei terreni di coltura ordinari, dove si rilevano i caratteri generali colturali del bacillo stesso.

Per la diagnosi è però utile fare innesti in brodo, in latte e in gelatina di Wurtz: dal brodo si fanno gocee pendenti per vedere se si ha che fare con un bacillo dotato di un forte movimento non proprio, oscillatorio; il latte non deve venire coagulato; l'innesto in gelatina lattosata infine serve per vedere se produca bolle di gas. Si possono anche fare innesti in acqua peptonizzata salata, e ricercare l'indolo, la cui produzione generalmente manca.

**IDENTIFICAZIONE.** — Sarebbe però impossibile potere da questi soli dati giungere ad identificare il *b. dissenterico*, perchè vari autori descrivono il tipico *b. dissenterico* con la proprietà di coagulare il latte, di produrre gas e di dare indolo, e perchè sono

stati isolati dei b. dissenterici che erano primitivamente forniti di tali proprietà e in seguito le hanno perdute.

Bisogna quindi ricorrere a procedimenti diversi: prove colturali speciali, prova del potere tossico, prova della virulenza, prova dell'agglutinamento.

*Prova colturale.* — In genere, come ha visto il Tusini, i metodi per la ricerca del b. di Eberth servono ugualmente per l'isolamento dei b. della dissenteria, e quindi, allorchè con questi procedimenti si è isolato da feci dissenteriche in coltura pura un bacillo che si comporta come il b. di Eberth, si è quasi certi che si ha che fare col vero b. della dissenteria.

Vi sono però terreni che servirebbero per differenziare il b. dissenterico anche dal b. del tifo.

Il Barsickow vide che nei terreni con aggiunta di nutrosio la presenza di glucosio o di lattosio permetteva la diagnosi differenziale del b. dissenterico rispetto al b. del tifo e al *b. coli commun.* Allora Klopstock pensò di riunire i due terreni in uno, e dopo numerosi tentativi di mutamento di rapporto del lattosio e del glucosio giunse alla conclusione che un terreno nutrosato contenente l'1% di glucosio e lattosio permette di differenziare i tre germi.

In questo terreno il b. dissenterico si sviluppa acidificando semplicemente il terreno da blen diventa rosso); il b. del tifo acidifica e produce coagulazione; il b. coli acidifica, coagula e produce gas.

*Prova del potere tossico.* — Questa prova fu proposta da Celli ed è con essa che sino dal 1896 egli, per primo, riuscì a dimostrare che al batterio isolato dalle feci dissenteriche, successivamente poi studiato da Shiga, era da attribuirsi la causa della dissenteria.

Per procedere a questa prova, secondo il Celli, si preparano grandi brodculture, le quali dopo 10-12 giorni di dimora nella stufa a 37° C. si precipitano con alcool: il precipitato si secca, si tritura in un mortaio e si inocula nel cavo peritoneale o nel sottocutaneo di piccoli gatti. Questo materiale tossico proteinico spiega un'azione piogena locale, un'azione marantica generale ed ha un'azione elettiva sulla mucosa del crasso, caratterizzata dalla produzione di iperemie, emorragie, infiltrazione emorragica e necrosi superficiali che va sino alla ulcerazione della mucosa stessa.

La prova si può fare anche col nucleoproteide estratto dal Celli e dal Valenti, e anch'esso tossico. Nei piccoli gatti inoculati nel sottocutaneo si nota un tremore che va man mano accentuandosi sino alla comparsa del vomito: cessando questo, quando la dose inoculata non sia stata eccessiva (perchè in tal caso gli animali possono morire anche dopo poche ore), gli animali rifiutano il cibo, diminuiscono di peso, e in genere dopo 2 giorni muoiono.

Nel peritoneo si trova un liquido siero-ematico e flogosi del crasso, a volte con emorragie e necrosi.

Secondo gli studi dello Scala, la tossiproteina che si ricava dai batteri isolati da molto tempo e non passati attraverso gli animali, produce degli effetti tossici, che si manifestano in modo diverso; la tossina agisce prevalentemente sul midollo e sul sistema nervoso, e si hanno effetti locali intensi.

Si può anche riconoscere l'azione tossica dei batteri della dissenteria uccidendoli con cloroformio e iniettandoli nelle vene dei conigli. In questi animali il Conradi avrebbe così provocato diarree e lesioni intestinali che presenterebbero la più grande somiglianza col quadro della dissenteria umana: questa azione venefica specifica sarebbe dovuta ad una sostanza estratta dai corpi batterici e solubile in acqua.

*Prova della virulenza.* — Il bacillo della dissenteria è abbastanza virulento. Passandolo successivamente per le cavie (con inoculazione sottocutanea) si riescono a uccidere gli animali per setticemia.

Dalle ricerche fatte nell'Istituto in tali condizioni, le cavie mostrano dopo poche ore dall'inoculazione sottocutanea un edema gelatinoso nel sito d'inoculazione che ricorda alla lontana quello che produce il b. del carbonchio: se però si aspetta che l'animale muoia, l'edema scompare.

Per fare tale prova è necessario inoculare le cavie nel peritoneo, ucciderle dopo 4-6 ore, isolare il bacillo dal sangue e reinocularlo successivamente in altre cavie e così 4-5 volte. Dopo l'ultimo passaggio si inocula il materiale colturale nel sottocutaneo di cavie sane o anche di piccoli gatti.

*Prova dell'agglutinamento.* — Il siero di animali immunizzati e il siero di individui dissenterici agglutina il b. della dissenteria.

Il siero degli animali adatto alla diagnosi deve provenire da grossi animali fortemente immunizzati, e i rapporti tra siero e coltura debbono non essere inferiori a 1 : 500; il siero dei dissenterici deve agglutinare nelle proporzioni di 1 : 50. Mentre adoperando il siero di animali immunizzati sono inutili le prove di controllo, adoperando quello umano è necessario farle sui b. coli isolati dalle feci degli stessi individui colpiti, potendosene trovare di quelli che vengano agglutinati nelle stesse proporzioni.

In tali casi, ripetendo la prova dell'agglutinamento in proporzioni maggiori, si trova sempre che i b. della dissenteria vengono agglutinati in diluzioni molto più alte di quelle con cui vengono agglutinati i b. coli.

Occorre aggiungere che l'apprezzamento del fenomeno in goccia pendente riesce per il b. della dissenteria meno facile che per il b. del tifo. Infatti, essendo il b. della dissenteria immobile, viene a mancare il criterio della cessazione dei movimenti, che è così prezioso nella sierodiagnosi del tifo. L'allestimento di un controllo è dunque *assolutamente necessario*. Non si deve neppure far troppo assegnamento nella osservazione macroscopica, giacchè nella proporzione consueta di 1 : 50 possono non vedersi fiocchetti né tracce di precipitazione nei tubetti, mentre al microscopio si riconosce che il fenomeno è nettamente avvenuto.

Va notato che col mezzo della sieroreazione si sono voluti separare dai b. dissenterici dei germi isolati da alcuni autori, che indubbiamente sono dei veri dissenterici.

Così lo Shiga ed il Kruse vorrebbero dimostrare che il b. del Celli non è identico col loro, e per questo, a parte i caratteri culturali e biologici la cui importanza è soltanto relativa, si vorrebbero appunto giovare del criterio sierodiagnostico, onde convalidare la loro opinione.

In quest'Istituto è però stato dimostrato che se si immunizzano i gatti, le cavie, i conigli col b. di Shiga, il siero di questi animali agglutina in rapporti che oscillano fra 1 : 50 e 1 : 100, tanto il b. di Shiga, quanto quello del Celli.

DIAGNOSI DIFFERENZIALE. — 1° coi bacilli *pseudodissenterici*.

Da alcuni autori si è voluto istituire un gruppo di b. pseudo-dissenterici. Il Kruse appunto parla di tali bacilli isolati in casi di dissenteria sporadica nelle carceri della Germania.

Si tratta di germi che però non possono distinguersi da quelli della dissenteria, quando siano sottoposti a un accurato studio, onde non credo opportuno insistervi sopra. È soltanto da ricordare che adottando i procedimenti diagnostici del Kruse si finirebbe col creare un numero stragrande di bacilli simili ad ognuno dei noti, ciò che non risponde più ai moderni metodi batteriologici.

Alcuni autori parlano anche di altri germi dissenterici fluidificanti e gasogeni, ma nessuno di questi ha che fare col b. della dissenteria, ed è quindi inutile accingersi a diagnosi differenziali con essi.

2° col bacillo del tifo.

Secondo il comune consenso dei vari autori, il b. della dissenteria avrebbe i seguenti caratteri comuni con quelli del b. di Eberth:

a) *in colture in brodo* — intorbidamento uniforme senza produzione di indolo;

b) *in gelatina a piatto* — colonie parte a bottoni, parte a foglie di vite;

c) *in agar a piatto* — patina alquanto trasparente;

d) *in agar glucosato al rosso neutro per infissione* — nessuna colorazione nè fermentazione;

e) *in latte sterilizzato* — nessuna coagulazione;

f) *in siero con laccamuffa* — arrossamento dapprima e poi dopo 48 ore ritorno del colore bleu.

Di fronte però a questi caratteri il b. dissenterico ne presenterebbe altri che lo farebbero differenziare facilmente, cioè:

1° è immobile;

2° *l'agar al maltosio con laccamuffa* rimane bleu (mentre il b. del tifo e il b. coli lo arrossano);

3° *sulle patate* forma una patina più spessa di quella del tifo e meno di quella del coli;

4° *nel terreno di Klopstock* produce solo acidi;

5° non è agglutinato dal siero di individui tifosi.

3° col b. coli.

In quanto alla diagnosi differenziale del b. dissenterico col b. coli, che a prima vista sarebbe la più importante, vale soltanto quando si trovino b. dissenterici gasogeni e che coagulino il latte, proprietà che però si perde

tenendo in coltura il germe per un tempo più o meno lungo, come è successo per il b. del Celli.

In tali casi giova ricorrere al criterio tossico, secondo il procedimento indicato dal Celli stesso, e alla prova sierodiagnostica.

## VI. — Batteri cromogeni.

Il gruppo dei batteri cromogeni comprende un grande numero di forme che si trovano specialmente nelle acque (V. Esame batteriologico delle acque), negli alimenti (latte ad es.), nel suolo: alcune di esse sono anche patogene per gli animali.

Per ciò che si riferisce all'uomo va ricordato il *b. pyocyaneus*, il così detto *batterio del pus bleu*, che facilmente si trova nell'ambiente e anche nelle vie digestive e sulla pelle dell'uomo sano.

Si tratta di bastoncini corti, di forma ovoidale, riuniti a 2-3 e anche a piccoli mucchi, mobile (lofotrico), non resistente al Gram. Solo in determinati substrati con aggiunta di antisettici si trasforma in un lungo bacillo curvo, spirulare, ecc.

*In gelatina a piatto* forma colonie giallastre a bordi ondulati o festonati, circondate da una zona di fluidificazione che ha un colorito verde fluorescente.

*In gelatina per iniezione* si sviluppa fluidificandola a calza e poi a cilindro: naturalmente nella gelatina si nota la stessa colorazione verdastra fluorescente.

*Su agar a becco di flauto* forma una patina verde-sporca a rillessi madreperlacei, mentre il substrato assume il solito colorito verde fluorescente.

*Su patate* forma una patina brunastra.

*In brodo* si sviluppa intorbidandolo: il liquido assume una tinta giallo-verdastra, fluorescente: se si agita il tubo appare verde. In superficie si forma un velo e al fondo un deposito viscoso, filante.

Il b. piocianeo produce un pigmento caratteristico, verde fluorescente, con varie gradazioni a seconda del substrato in cui si sviluppa.

Possiede anche vari enzimi, quali il proteolitico, il diastatico, l'inverso. Esso inoltre produce la così detta piocianasi, la dimostrazione della quale è stata data dall'Emmerich e dal Löw (V. pag. 273).

Questa sostanza sarebbe un enzima capace di distruggere lo stesso b. piocianeo ed anche altri batteri: essa si produrrebbe in speciali mezzi di coltura.

Il b. piocianeo ha anche la proprietà di ridurre i nitrati a nitriti, di guisa che è un denitrificante, ecc.

È patogeno per le cavie, i ratti e i conigli.

Le prime inoculate sottocute presentano un edema emorragico; inoculate nel peritoneo presentano un essudato a volte pure emorragico. Gli animali muoiono in collasso ed ipotermia. I germi si trovano nel luogo di inoculazione, nel sangue e in tutti gli organi.

I ratti si diportano press'a poco come le cavie: si sarebbero però, in seguito alla inoculazione endoperitoneale, trovate ulcerazioni nell'intestino.

Il coniglio invece è poco recettivo: lo si uccide certamente quando si inoculi il germe per la via endovenosa.

Chechè si dica, non è troppo facile diagnosticare il *b. piocianeo*, qualora si vogliano tenere presenti anche le altre forme di *b. fluorescenti* che si possono trovare negli stessi materiali in cui si trova il *piocianeo* stesso, comprese le cavità naturali dell'uomo e degli animali.

Nel *cholera nostrus* è stato descritto il *b. DI POTTIEN*, che si differenzia dal *b. piocianeo* non foss'altro perchè è stato descritto capsulato nelle colture e nell'organismo, è gasogeno e coagula anche il latte: uccide i topi e i conigli per la via sottocutanea e non fa nulla inoculato a questi ultimi animali per la via endoperitoneale.

Il *b. VIRIDIS* o di Lesage, che si troverebbe nella diarrea verde infettiva dei bambini, e che si differenzia dal *b. piocianeo* per il sedimento verdastro che dà nelle brodocolture, per la consistenza cremosa delle colonie in gelatina e della patine su agar, di colorito del resto verdastro. Inoltre è poco patogeno per gli animali da esperimento: ingerito dai conigli produce una diarrea verde di cui guariscono.

Nel latte è facile trovare il *b. CIANOGENO* O *SINCIALEO* O *DEL LATTE BLEU* il quale non ha che vedere col *b. piocianeo*.

È un bastoncino mobile non resistente al Gram, in gelatina a piatto forma colonie lobate verdi-blustre non circondate da un alone di fluidificazione: su agar forma una patina grigiastro circondata da una zona verdastro; su patate forma una patina grigia e attorno la patata assume una tinta bruna. Nel latte il colorito bleu si ottiene perchè il pigmento grigiastro prodotto dal bacillo diventa bleu coll'acidificarsi del substrato, acidificazione che ordinariamente è opera del *b. dell'acido lattico*, ma che si può ottenere aggiungendo al latte in cui cresce il batterio del glucosio con un po' di lattato. A seconda del substrato in cui si trova, variano poi le modalità della tinta del pigmento del *b. del latte bleu*, ciò che ne ha fatto, sembra erroneamente, distinguere diverse forme.

## CAP. VIII.

### B A C I L L I.

I bacilli propriamente detti sono quelle forme batteriche a bastoncino, capaci di formare entro il loro corpo corpicciuoli notevolmente resistenti agli agenti fisico-chimici e di riprodurre il germe stesso, le cosiddette endospore, e ciò senza che si deformi la cellula batterica. Alcuni di essi sono aerobi, altri anaerobi, per cui di solito si distinguono nei due sottogruppi omonimi. Tra gli aerobi si trova il *b. del carbonchio ematico*, tra gli anaerobi il *b. dell'edema maligno* e il *b. del carbonchio sintomatico*.

La distinzione dei bacilli in aerobi ed anaerobi va conservata, malgrado noi conosciamo oggidì un gran numero delle condizioni per cui gli anaerobi possono vivere in aerobiosi, cioè a contatto dell'ossigeno atmosferico. Queste condizioni s'ottengono:

1° con mezzi chimici; secondo Trenkmann l'aggiunta di una soluzione all'1.01 di solfito di soda in quantità di 10-20 gocce per ogni provetta in brodo (si raccomanda che il prodotto chimico sia buono e la soluzione fresca)



e questo metodo secondo alcuni autori (Silberschmidt, Rodella) dà eccellenti risultati; così anche il solfuro d'ammonio venne recentemente consigliato dall' Hammerl pare con successo, mentre non così sarebbe dell'aggiunta di fegato di solfo e d'idrogeno solforato;

2) colla simbiosi di aerobi;

3) con filtrati di anareobi e talvolta anche di aerobi.

## B. del carbonchio ematico.

### Caratteri morfologici.

Il b. del carbonchio ematico (*b. anthracis*) è un germe strettamente aerobico, a forma di bastoncino diritto, ad estremi abbastanza nettamente tagliati, spesso  $\mu$  1-2 e lungo  $\mu$  3-10 (V. fig. 103-d).

Questi germi raramente si trovano isolati, per lo più sono appaiati a 2-3-4, a filamento.

Essi si colorano coi comuni colori di anilina, e, se giovani, non lasciano vedere alcun particolare nel loro contenuto: se adulti mostrano degli spazi chiari, che, quando il germe non è sporificato, sono rappresentati da grassi e da vacuoli.

Nel contenuto del germe si può ben dimostrare del glicogeno, e qualche volta dei granuli di natura albuminoidea.

Ciascun bastoncino è rivestito di uno strato capsulare doppio di cui l'esterno non è dimostrabile coi comuni metodi di colorazione, lo è però con metodi speciali, specialmente nei punti di unione tra germe e germe.

Nell'organismo, questo strato capsulare per l'addossamento di sostanze albuminoidee o colloidali, a volte si ispessisce moltissimo, formando un alone ovoide o sferico che riveste il germe o più comunemente uno strato avvolgente, avente la stessa forma del batterio o del filamento (rettangolare visto in sezione ottica) (fig. 197), dimostrabile molto bene col metodo di colorazione del Gram, qualora si usi come colore di contrasto la eosina.

Nelle colture, salvo che in quelle in siero o quando il bacillo sia stato costretto con ripe-



fig. 197.

tuti processi a vivere in liquidi contenenti sostanze inadatte al suo sviluppo (colture con arsenico), questa capsula si vede senza alcun artificio.

È un germe perfettamente immobile, in cui non è stato sinora possibile dimostrare la presenza di ciglia.

Resiste in modo tipico al metodo del Gram.

Esso nei terreni artificiali dà facilmente luogo alle così dette forme degenerative od involutive, malamente colorabili o a tratti irregolari, dallo aspetto di un *i* o di spirali rigonfiate.

Anche negli organi tenuti fuori dal contatto dell'aria, queste forme si ottengono dopo 7-8 giorni: esse sono incoltivabili.

### Caratteri riproduttivi.

Si moltiplica per divisione diretta, abbastanza rapidamente: in adatte condizioni di temperatura e di substrato il suo ottimo di sviluppo si ha a 37°: al disotto di questa temperatura la crescita si arresta a 12°-14°: al di sopra, verso i 43°-44° C.

E nel moltiplicarsi i germi rimangono spesso attaccati gli uni agli altri, sicchè essiccando il materiale per poi colorarlo, nel punto di unione tra germe e germe, per la coagulazione del contenuto batterico, rimane uno spazio ovoide: così si ha la formazione dei filamenti dall'aspetto di canna di bambù. Se il preparato non si essicca e si osserva in acqua, questo aspetto però non si nota.

Si moltiplica anche per spore la cui formazione è legata alla presenza dell'ossigeno libero, nonché a condizioni di temperatura speciali, di cui molte sfuggono.

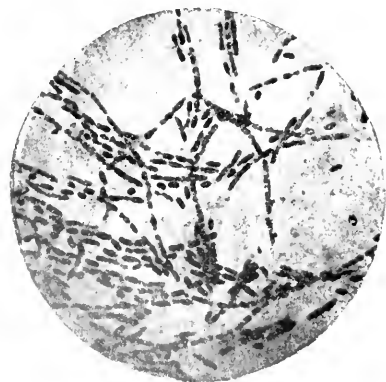


fig. 198.

Esso non sporifica né nell'interno dei tessuti, né nelle colture in terreni liquidi (salvo nei punti in cui il menisco della brodocoltura viene in contatto con le pareti del tubo: invece nelle colture su agar, e specialmente in quelle su patate, sporifica facilmente.

La sporificazione avviene nell'interno del germe (fig. 198) senza deformazione delle cellule madri, e le spore si riconoscono a fresco per la loro rifrangenza e

mediante le colorazioni per la difficoltà che hanno di assumere i colori di anilina e una volta assuntili di cederli difficilmente.

Ottimo mezzo per dimostrarle è il procedimento del Möller (V. Vol. I, pag. 242).

Quanto più la temperatura si avvicina a 37°, più rapida è la sporificazione: a 37° è completa in 18-20 ore, il suo optimum pare però sia a 28°.

Non sporifica al di sotto di 18° neppure in assenza di ossigeno, quantunque sia stato veduto che eccezionalmente ciò può succedere.

Si può poi fargli perdere la proprietà di sporificare, tenendo le colture a 42°: esso non la riprende dopo ciò neppure a 30° (dopo 14 passaggi).

La perde pure nelle colture da lungo tempo non trapiantate e in quelle trattate con bicromato potassico o acido cloridrico: sporifica nel terreno a m. 1 1/2 di profondità ma non a 2 m.

#### Caratteri culturali.

Si sviluppa in tutti i terreni di nutrizione in modo rapido ed abbastanza caratteristico.

*In gelatina e in agar a piatto.* Le colonie tipiche si formano in gelatina e in agar a piatto: nella prima sono circondate di un alone di fluidificazione, nella seconda no. Ivi esse assumono l'aspetto di *caput medusae* (fig. 199), cioè di filamenti attorcigliati, circonvoluti a guisa dei capelli di donna: assomigliano, secondo il Bourget, al calice di una rosa muscosa.

Non sempre però si ha questo aspetto tipico in tutte le colonie: il Masso ha potuto vederne alcune a bordi sfrangiati che



fig. 199.



fig. 200.

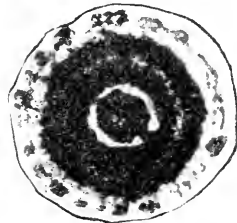


fig. 201.

nelle piatte in gelatina si spargono nell'alone di fluidificazione, altre aventi un aspetto decisamente cespuglioso, altre nucleate ad aloni concentrici a bordi areolati (fig. 200) e, nelle piatte in agar, alcune nucleate a strati concentrici, a bordi lobati (fig. 201)

presentanti solo a questi bordi l'aggrovigliamento dei filamenti come nelle tipiche colonie a *caput medusae*.

In genere nell'agar le colonie assumono più frequentemente l'aspetto del *caput medusae* che nella gelatina, e sono specialmente le profonde le più tipiche: è da queste che si dipartono dei filamenti ricciuti che raggiungono la superficie dell'agar producendo colonie simili.

In gelatina per *infissione*, quando lo sviluppo è caratteristico si ha la produzione, lungo l'infissione, di un nastrino da cui si dipartono finissime barbe, le quali non raggiungono mai le pareti della provetta, regolarissime, orizzontali e sempre più corte man mano che ci si avvicina all'estremo inferiore della linea di innesto: cosicchè l'aspetto dell'infissione si assomiglia a quello di una spazzola da lume (fig. 202).



fig. 202.

Sulla superficie non si trova intanto alcuna pellicola, però si forma una coppa o imbuto di fluidificazione limpida per lo più, il quale si ingrandisce, e può trasformarsi in un cilindro di fluidificazione: solo alcune volte rimane limitato e ricorda quello del colera, specie se resta sotto la pellicola una bolla di gas. La pellicola poi si infossa e cade al fondo del cilindro o dell'imbuto fluidificato.

Alcune volte il b. del carbonchio perde la proprietà di dare filamenti lungo l'infissione, ed allora si ha una fluidificazione a calza o conica, a cono corto.

Inoculando il germe negli animali lo si può però ripigliare in condizioni da riprodurre la tipica infissione ora descritta.

Su agar a becco di flauto, si sviluppa, formando una patina piuttosto spessa, bianco-grigiastria, più sottile al margine, che è ondulato e spesso con fine areolatura, a superficie come si dice « disseminata di piccole bolle d'aria argentine ».

Su patate, si sviluppa formando una patina grigio-biancastra, piuttosto spessa, a superficie leggermente anfrattuosa a margini lobati, con fine areolature, ma non sempre bene distinguibili.

In brodo, si sviluppa lasciandolo limpido e vi forma un deposito fioccoso: sulla superficie dà luogo a un velo nubecolare, fioccoso, da cui spesso si partono fiocchi nubecolari che tendono a raggiungere il deposito o ad attaccarsi alle pareti.

In latte, si sviluppa coagulandolo se ha reazione alcalina o debolmente acida: il coagulo poi si ridiscoglie.

Se viene coltivato in matracci o in altri recipienti grandi dove l'ossigeno dell'aria ha una maggiore superficie di contatto col latte, allora non si osserva la coagulazione ed in sua vece si ha una colorazione giallo-bruna del latte dovuta a trasformazione della caseina in sostanza non precipitabile.

### Caratteri biologici.

Produce molti enzimi, e cioè: il proteolitico, il diastatico, il coagulante, il dissolvente.

L'enzima dissolvente è stato molto bene studiato dal Gamaleja e da altri autori.

Questo enzima ha la proprietà di distruggere lo stesso b. del carbonchio, nonché altri batteri.

È patogeno per gli animali e per l'uomo.

I montoni sono recettivi quando la penetrazione dei bacilli avvenga per via gastrica, specialmente se ai foraggi sono commisti dei cardi: anche i bovini sono recettivi per la medesima via.

I cani giovani sono poco sensibili a meno che non si scelga la via pleurica piuttosto della peritoneale, per la inoculazione del germe. Gli animali più sensibili sono i bovini, poi vengono le cavie e i conigli. La cavia non resiste all'inoculazione del carbonchio, qualunque sia la via di penetrazione.

Nei conigli l'infezione è difficile per la via digerente. I sorci non sono eccessivamente suscettibili: il ratto grigio è meno suscettibile, molto invece il ratto bianco vecchio, mentre un po' più resistenti sono i ratti bianchi giovani. Gli equini sono meno suscettibili dei bovini, e l'infezione in essi avviene meglio per la via sottocutanea che per la peritoneale.

Alcuni animali eccezionalmente suscettibili si infettano per qualunque via, come p. es. il maiale.

Anche gli animali refrattari si possono rendere recettivi, usando a questo scopo procedimenti diversi: si può così cercare di diminuire il numero dei leucociti mediante l'acido lattico o il glucosio, ovvero inoculando i germi che producono leucolisine (forse agiscono così il *b. pyocyaneum*, il *b. fluorescens liquefaciens*, il *b. prodigiosus*), ovvero, come p. es. nei cani, producendo infezioni che ne diminuiscono la resistenza (cani idrofobi).

Si può anche rendere recettivo l'animale diminuendo la quantità dei componenti emolitici che si trovano nel suo siero.

Gli uccelli si possono rendere recettivi immergendone le zampe in acqua a 15°, ovvero col digiuno o colla sete: certo nei piccioni lasciati a digiuno diminuiscono le alessine (Casagrandi).

Per rendere recettivi gli animali a sangue freddo occorre tenerli a 35°.

Sembra che nella predisposizione abbia molta importanza la milza; infatti animali refrattari, smilzati diventano recettivi: anche pesci privi di milza, p. es. l'ippocampo e il pesce dorato, sono infatti sensibili al carbonchio.

Bastano pochissimi germi per uccidere gli animali recettivi: da 16 a 1000, a seconda della virulenza del germe, virulenza che può ottenersi soltanto mediante ripetuti passaggi da animali recettivo ad animale recettivo, non già come si credeva, inocolandolo in animali refrattari, come il piccione, e poi riprendendolo dopo varie settimane.

Le lesioni che determina sono:

1° *se l'inoculazione viene fatta per la via sottocutanea*: edema gelatinoso sottocutaneo specialmente nei topi e nelle cavie, meno frequenti nei conigli; le carni divengono pallide « lessate » come si dice, la milza grande, molle, spappolabile; il fegato nerastro molle: sonvi edemi ed iperemie in tutti gli organi;

2° *se l'inoculazione vien fatta nel peritoneo* si hanno versamenti sierogelatinosi nel cavo addominale e poi gli stessi fatti come colla inoculazione sottocutanea:

3° *se l'inoculazione vien fatta nelle vene*, si hanno versamenti nelle cavità, iperemie degli organi, ecc.: i bacilli si trovano in tutti gli organi e nel sangue se il carbonchio è virulento.

Inoculati nel sottocutaneo entrano in circolo un po' tardivamente, non subito, come si crede: secondo alcuni dopo 6-22 h, secondo altri dopo 28-56 h.

Gli animali muoiono in genere in 2-3 giorni; difficilmente prima. Se si attende qualche tempo a fare l'autopsia, specialmente se l'animale si tiene per un certo tempo a 30°-35°, i germi si moltiplicano e si possono trovare numerosissimi, e nel sangue e nel sito d'inoculazione, mentre, appena morto l'animale, in questi punti possono non essere molto numerosi.

Le attività biochimiche del b. del carbonchio si ritiene si esplicano per azione del germe stesso, il quale, moltiplicandosi nei tessuti e specialmente nei capillari, finirebbe col produrre, per effetto meccanico, emorragie, infarti, trombosi e, assimilando l'ossigeno, morte per asfissia.

Oggidi però che si è veduto che nessun essere vivente agisce di per sè, ma per opera di speciali sostanze enzimatiche o fermentative che contiene o elimina dal proprio corpo, tale opinione, non avvalorata da alcun fatto, doveva cadere. Si è quindi pensato alla produzione di speciali veleni.

Le ricerche sui veleni solubili prodottisi nelle colture sono però anch'esse cadute: io ho potuto dimostrare che il veleno che si produrrebbe nel substrato con peptone, la così detta tossina carbonchiosa, è un peptone tossico non dovuto al bacillo, e che i veleni alealoidei che produrrebbe il b. del carbonchio nelle colture

in albuminato, non esistono: essi erano veleni secondari che si producevano nelle colture del Martin, perchè non usava sterilizzare i substrati di nutrizione (!).

Il corpo del b. del carbonchio, invece, contiene dei materiali tossici, i quali hanno l'azione flogogena, pirogena e marantica delle proteine ordinarie dei germi.

Ricercando un veleno negli organi degli animali carbonchiosi estratti con acqua, con soda, alla pressione di 500 atmosfere, ho potuto dimostrare la inesistenza di qualunque tossina, o alcaloide nel sangue, nei muscoli del cuore, nel fegato, nella milza, e ho potuto per converso vedere che gli estratti alcalini degli organi hanno un'azione coagulante intensa, e necrotizzante assai superiore a quella che posseggono gli estratti degli organi degli animali sani.

Separando con opportuni trattamenti i nucleoproteidi degli organi normali e l'istone è rimasta una sostanza avente tutti i caratteri della proteina carbonchiosa anzi del nucleoproteide del b. del carbonchio, dotata di azione pirogena, coagulante e necrotica.

Cosicchè l'azione tossica del b. del carbonchio è precipualmente un'azione coagulante dovuta al nucleoproteide del bacillo stesso. Questo è il veleno primario che si produce nell'infezione carbonchiosa.

Accanto ad esso si producono poi dei veleni secondari: l'uno è un'emolisina batterica dovuta al germe, l'altro è l'istone che si produce dalla distruzione dei leucociti nell'organismo stesso.

### Diagnosi.

**ISOLAMENTO.** — Il b. del carbonchio si ricerca negli organi degli animali morti di carbonchio, nella pustola carbonchiosa dell'uomo, nel terreno, ecc.

#### 1° Dall'animale.

Qualunque sia l'animale che si sospetta morto di carbonchio, la ricerca del bacillo va fatta dalla milza e dal sangue sia facendo preparati colorati col metodo del Gram e con fucsina carbolica, sia facendo preparati a fresco del materiale diluito in brodo o in soluzione fisiologica di *Na Cl*.

I caratteri morfologici del germe (grandezza, estremi tagliati, resistenza al Gram, immobilità) spesso sono sufficienti, accoppiati ai dati forniti dalla autopsia, a condurre ad una diagnosi. Però è sempre bene fare qualche piastra isolante in agar (e in mancanza dell'agar in gelatina) per vedere se si ottengono colonie a *caput medusae* e isolato il germe, far successivi passaggi in brodo, su agar, in gelatina per intossione.

Quando si voglia aggiungere la prova sull'animale, si può inoculare la polpa della milza e il sangue diluito in brodo o in acqua sterile, sottocute a

un topo od a una cavia e in mancanza di questi a un coniglio; però bisogna essere certi prima che non vi si trovino altri germi della putrefazione perchè facilmente si hanno negli animali dei reperti anatomopatologici, che poi lasciano in dubbio (edemi emorragici con gas nel sito di inoculazione, p. es., che fanno pensare a infezioni da anaerobi, ecc.).

Si ovvia del resto facilmente a questo inconveniente facendo prima le piastre isolanti e poi inoculando il germe in coltura pura.

2° *Dalla pustola maligna.*

La ricerca si pratica col succo della pustola, col quale si fanno preparati come quelli dal sangue e dalla polpa della milza, nonchè colture ed inoculazione negli animali.

3° *Dal terreno o da altri materiali.*

È inutile inoculare il terreno o altri materiali solidi polverizzati sotto la cute di animali per ricercare il bacillo del carbonchio, perchè questi muoiono per altre infezioni (da anaerobi specialmente).

È meglio trattare i materiali con acqua sterile col metodo di Emmerich o col mio metodo per l'esame batteriologico del terreno (V. Parte III); porre il materiale a 65° per 1 h. e poi fare piastre con l'acqua stessa o cercare tra le colonie se qualcuna si riporta a quelle del b. del carbonchio, farne passaggi e da questi procedere ad ulteriori ricerche microscopiche, colturali e alla prova negli animali.

**IDENTIFICAZIONE.** — La identificazione del b. del carbonchio in coltura pura è oggidì facile a farsi, tenendo presenti tutti i suoi caratteri morfologici e colturali e l'azione patogena verso gli animali.

Vi sono però dei casi in cui qualcuno dei caratteri fondamentali del germe può venire a mancare e precisamente:

- 1° l'aspetto caratteristico delle colonie e delle infissioni;
- 2° l'azione patogena verso gli animali.

In quanto all'aspetto delle colonie è noto che oltre le forme a *caput medusae* il Musso ha dimostrato che si possono trovare tipi di b. del carbonchio che formano colonie cespugliose, ramosi, ecc. Quando quindi, in casi sospetti, si incontrino di tali colonie, è bene procedere a passaggi del germe da animale ad animale (cavia) e poi dopo 3-4 passaggi far piatte in agar: io non conosco alcun tipo di b. del carbonchio che in tali condizioni non formi colonie a *caput medusae*. Lo stesso si dica quando il b. del carbonchio abbia perduta la proprietà di dar barbe nell'infissione in gelatina.

In quanto all'azione patogena verso gli animali, la mia esperienza personale mi permette di poter affermare che tipiche forme di b. del carbonchio possono perdere la proprietà di essere patogene oppure possono, inoculate nel sottocutaneo, perdere la proprietà di produrre edemi e di rendere la milza ingrossata e scura, ecc. Il passaggio attraverso animali naturalmente refrattari toglie alle forme tipiche del b. del carbonchio la proprietà di essere patogene (Martelli) e l'azione dei sterilizzanti fisici e chimici agisce nella stessa maniera.

Non si può, in presenza di tali forme, quindi affermare che si tratti di varietà del bacillo o di forme simili, come qualche autore, sorpreso dalla cosa, ha eredito di poter ritenere.

Si può del resto ricorrere alla prova sierodiagnostica per la identificazione.

Essa è solo di recente stata applicata, per la difficoltà di avere delle colture intorbide. Il Gengou si serve del vaccino n. 1 di Pasteur che dà colture in brodo normalmente torbide, io di emulsioni di patina in soluzione fisiologica di cloruro sodico, sbattute in presenza di



sabbia sterilizzata e centrifugate per privarle della sabbia e dei grumi; ma questi materiali per la pratica non si prestano bene.

Il miglior procedimento è quello del Santori, che si serve di brodocolture virulente che ottiene torbide col metodo di Arloing.

Con questo procedimento in realtà (servendosi di brodo di carne di cavallo non glicerinato, come terreno di coltura) qualunque tipo di bacillo del carbonchio intorbida il liquido nutritivo. Avendo quindi dei bacilli dei quali si dubita se siano veri bacilli del carbonchio, ottenute le brodocolture torbide, si trattano con siero che agglutini il tipico bacillo del carbonchio.

Per ottenere il siero agglutinante, il miglior procedimento consiste nell'inoculare alla cavità l'estratto nucleoproteidico del bacillo del carbonchio: si possono però anche inoculare con colture fortemente attenuate col calore. Ed è meglio servirsi della cavità perché normalmente il suo siero non agglutina le brodocolture torbide neanche nelle diluizioni da 1 a 10 (Santori).

### DIAGNOSI DIFFERENZIALE. — 1<sup>o</sup> coi *similcarbonchi* :

Nello stesso gruppo del bacillo del carbonchio ci sono germi ad esso simili, cioè :

- il *b. pseudoanthracis* di Burri;
- il *b. pseudoanthracis* p. d. di Wahrlich;
- il *b. anthracis similis* di Mac Farland;
- il *b. anthracoides* di Hüppe;
- i *b. B e C similcarbonchi* di Ottolenghi.

Questi germi sono stati isolati da polveri di carni, o da ascessi, o da patate (*anthracoides*) ed hanno molti dei caratteri morfologici del carbonchio sebbene si ritenga che se ne differenzino perchè gli estremi sono sempre rotondi.

Coltivati a piatto il *b. pseudoanthracis*, l'*anthracoides* e l'*anthracis similis* formerebbero colonie giallo-verdastre, costituite da un intreccio di filamenti, che a un dato punto del bordo loro produrrebbero un lungo filamento a scudiscio. Fluidificano nelle infusioni sempre a cono, non producono mai barbe nè pellicola dopo avvenuta la fluidificazione. Il brodo è leggermente intorbidato e presenta in superficie una lieve pellicola. Non sono alquanto patogeni che nei topi, nei quali, inoculati in grande quantità, producono un malessere passeggero.

Il *b. pseudoanthracis* del Wahrlich non è patogeno. Alle volte produce sull'agar una patina lucida che poi si ineresa e si stacca facilmente a brani coll'ago: sulle patate si sviluppa poco e con patina sottile i cui bordi si perdono nel substrato.

Il *b. anthracis similis* e l'*anthracoides* si differenziano poi facilmente: il *similis* ha nelle vecchie colture, come si dice, l'aspetto di gocce di miele: in brodo forma una pellicola e non intorbida: su patate forma una patina a bordi indistinti, a volte serosi: il *b. anthracoides* si sviluppa meglio al di sotto dei 37°, e, inoculato in cavie, conigli o topi, produce costantemente solo fatti locali, cioè noduli a contenuto purissimile. Esso è forse l'unico bacillo che sia in stretta relazione col carbonchio, anche per fatto che, inoculandolo nei conigli, pare riesca ad immunizzarli verso il vero carbonchio.

I bacilli *B e C* di Ottolenghi hanno i caratteri morfologici e culturali del *b.* del carbonchio, però sono mobili e le loro spore germogliano come quelle del *b.* sottile: sono anche pochissimo patogeni.

Accanto ai *similcarbonchi* veri ne esistono altri i quali sono dei tipici bacilli del carbonchio attenuati, come il *b. similcarbonchio A* di Ottolenghi, e, per quanto io penso, il *b. similcarbonchio* del Giannone.

2<sup>o</sup> coi bacilli aerobi che si trovano nel terreno, nei materiali in putrefazione, nell'acqua, ecc., cioè col micoides, col mesenterico, col megaterio, col sottile.

I caratteri peculiari, per i quali si differenziano dal *b.* del carbonchio ematico e tra di loro, sono i seguenti:

TAR. 35.

	<i>B. miosoides</i>	<i>B. mesentericus</i>	<i>B. megaterius</i>	<i>B. subtilis</i>
Forma . . . . .	bastoncini con estremi leggermente rotondi	bastoncini con estremi quasi pianeggianti	bastoncini con estremi rotondi	bastoncini con estremi leggermente arrotondati
Mobilità . . . . .	assente o quasi	mobile	movimento lento	movimento vivace
Colonie a piatto in gelatina	colonie biancastre ramificate dall'aspetto di muffe	colonie giallastre con centro scuro ed anello periferico più chiaro, circondato da una zona di fluidificazione; dalla periferia partono dei prolungamenti raggiati	colonie rotonde, grigiastre, finamente granulose, con centro giallastro circondato da tratti raggiati; fluidificazione lenta	colonie giallastre rotonde o con margini sinuosi, con filamenti alla periferia; fluidificazione al centro, che presenta un ammasso bianco giallastro circondato da floccetti
Infilssione in gelatina . . . . .	nastro ad albero di abete; pellicola sulla superficie della zona fluidificata	fluidificazione rapidissima; liquido biancastro con flocculi densi, pellicola mercuriale spata in superficie	rapido sviluppo in superficie; fluidificazione lenta a imbutto; pellicola grigiastro gialleggiante; liquido chiaro	colture tenui in superficie e lungo l'infilssione; gelatina fluidificata, prima torbida e da ultimo chiara, sormontata da una pellicola gialleggiante e spessa
Strisciamento su agar a becco di flauto	patina grigio-brunastria, solenamente grassa, con filamenti radiiformi	patina grigia o grigio-giallastra, d'aspetto cereo, prima liscia e poi rugosa, molto aderente	patina grigiastro	patina bianco-lattea, un poco trasparente, che poi diventa pieghettata
Terreno di Fiore . . . . .	acalinità e intorbida	acalinità e intorbida	acalinità e intorbida	acalinità e intorbida

Quando poi nascano dei dubbi è necessario tenere presenti tutti i singoli caratteri morfologici

### B. MYCOIDES O RADICIFORMIS O RADICOSUS O WURZELBACILLUS.

È un germe un po' più corto del *b. del carbonchio* e un po' più grosso, quantunque ce ne siano alcune forme un po' meno spesse; i suoi estremi non sono netti ma alquanto arrotondati; la sua mobilità è dubbia (ad ogni modo se si ha a che fare con un *b. radiceforme* immobile si tratta del tipico *b. mycoides* Flügge); resiste al Gram.

Si coltiva su tutti i substrati:

*In gelatina a piatto*: forma colonie puntiformi granulose, che ai bordi si ramificano, le così dette colonie ifomicetiche che si spargono, allorchando è avvenuta la fusione, nell'alone di fluidificazione; alle volte lo sviluppo ramoso è molto rizoglioso, e la colonia può raggiungere la grandezza di qualche centimetro (allora si tratta di quel germe detto *b. muscoides* del Liborins).

*In gelatina per infusione*: fluidifica prima a coppa e poi rapidamente a cilindro; il nastro presenta rami regolari, molto lunghi, più numerosi in alto che in basso; alle volte raggiungono anzi le pareti del tubo presentando vere o false ramificazioni (*b. muscoides*). In superficie rimane una patina galleggiante sulla zona fluidificata.

*Su agar*: forma una patina bianco-gialla o grigio-brunstra, finemente granulosa, specialmente quando la coltura è giovane; dai bordi emanano delle ramosità che alle volte rimontano sulle pareti del tubo (nel caso che la patina rimanga limitata, è più proprio parlare di *b. mycoideis*, altrimenti di *b. muscoides*).

*Su patate*: forma una patina prima biancosudicia, poi giallo-sporca, secca, a bordi molto ramificati che si confondono col substrato.

*In brodo*: secondo alcuni si sviluppa intorbidandolo, ma non costantemente; il sedimento è filamentosso e fioccoso; alle volte forma in superficie una pellicola, che rimonta le pareti del tubo.

Produce l'enzima proteolitico. L'inverso, il diastasio, non produce indolo e solo tracce di  $H_2S$ . Ordinariamente non è patogeno; può però diventarlo, p. es. coltivato in brodo ordinario, posto in cellette di collodion nel peritoneo di cavie, e allora è causa di setticemia per le cavie e i conigli.

Pare identico ad esso il *b. radicosus* di Zimmermann. Certo non lo è però il *b. mycoideis roseus*, che produce una patina rosea.

### B. MESENTERICUS O B. DELE PATATE.

Secondo alcuni ve ne sono solo due varietà, e cioè: il *fuscus* e il *ruber*, però altri han descritte diverse forme simili, come, p. es., il *b. m. vulgatus* e il *b. m. liodermos*.

Il *B. M. VULGATUS* è in realtà il tipico bacillo delle patate sane, e va anche detto *bacillus vulgaris* (Lehmann e Nennans). È sottile, corto, ad estremi leggermente pianeggianti e molto mobile; salvo qualche volta, resiste al Gram e si sviluppa in tutti i substrati.

*In gelatina a piatto*: forma colonie che quando sono giovani hanno un aspetto trasparente e trasparente, lobate e venate come nel feto, poi coll'andare del tempo la lobatura diventa più marcata e si dirige verso il centro della colonia, nel mentre la periferia, più chiara, si va filantando e il centro diviene scuro, granuloso; intanto succede la fluidificazione del substrato, per cui la colonia rimane circondata da un alone di fluidificazione raggiato.

*In gelatina per infusione*: si forma da prima una piccola coppa che si trasforma presto in cilindrica, salvo in quei casi in cui assume la forma di sacco; la gelatina fusa è torbida vicino al menisco, poi rapidamente si rischiarà e su di essa galleggia una pellicola completa increspata, il sedimento al fondo è fioccoso, bianco sporco.

*Su agar a becco di flauto*: si forma una patina spessa, aderente, diffusa, grigio-sporca, dapprima liscia e poi con rilievi alla superficie, quindi irregolarmente rugosa.

*Su patate*: la patina è spessa, secca, diffusa, bianco-sporca, fortemente rugosa; a lungo andare su di essa si formano goccioline d'aspetto mucoso, giallognole, che a poco a poco invadono tutta la patina.

*In brodo*: si sviluppa senza intorbidarlo e forma una pellicola completa rugosa; il sedimento è polveroso; va notato che, secondo alcuni, la varietà immobile darebbe un lieve intorbidamento fino dal principio.

Simile o identico al *b. m. vulgatus* sarebbero il *b. gunmosus* che produrrebbe una fermentazione gonmosa nell'infuso di digitale, e il *b. carcinomates* imputato di produrre il cancro (!).

Il *B. M. FUSCUS* dà una patina giallo-brunastra specialmente su patate, nelle quali il colore da prima è giallo-grigiastro; inoltre in gelatina a piatto da colonie a bordi cigliati.

Identico al *b. m. fuscus* è il *b. maidis*, imputato dal Cuboni e dal Lombroso di produrre la pellagra, il quale non ha nulla poi a che vedere col *b. zeae*, che non è affatto un mesenterico e che dà patine crenose-gialle.

Il *B. M. LIODERMOS* sembra una varietà del *b. m. fuscus*; su patate produce una patina di consistenza sciropposa come quella del *b. vulgatus*; ad esso identico è il *b. mucosus*.

Il *B. M. RUBER* produce su agar e su patate una patina rosea; è sempre immobile e non pare che sporifichi. Le sue colonie mantengono i caratteri di quelle giovani del *b. m. vulgatus*.

Tutti i bacilli mesenterici propriamente detti (*vulgatus fuscus, ruber*) posseggono le stesse proprietà biologiche del *b. mycoides* e anch'essi possono divenire patogeni.

#### B. MEGATERIUS.

Sono germi corti e tozzi, ad estremi alquanto pianeggianti o rotondi, resistono al Gram, sono poco mobili o dotati di movimento che sta fra l'oscillatorio e il molecolare.

*In gelatina a piatto*: producono colonie granulose, grigio-biancastre, sempre nucleate, ma il cui nucleo, giallastro, però non è sempre ben definito, a bordi pianeggianti, dai quali si partono una serie di raggi.

*In gelatina per iniezione*: si sviluppano fluidificandola prima a imbuto o a sacco e poi a cilindro; la gelatina diviene torbida, con una pellicola sottile, trasparente, grigiastro, galleggiante.

*Su patate e su agar*: non si differenzia dal *b. subtilis*: forma una patina grigia, spessa, grigiastro diffusa, alle volte d'aspetto polveroso.

*Il brodo* è poco intorbidato; in genere la pellicola manca; se c'è, è sottile, cerulea e può assumere anch'essa aspetto polveroso.

Ad esso si assomiglia il *b. quercifolius* isolato da salecie: è un po' più piccolo, con colonie lobate e rilevate, a centro crateriforme.

#### B. SUBTILIS, B. DEL FIENO, HEUBACILLUS.

È rappresentato da germi lunghi, sottili, a estremi rotondi, molto mobili, salvo alcune varietà come il *b. implexus*; resiste al Gram.

*In gelatina a piatto*: forma colonie prima granulose a bordi sinuosi, un po' sparsi, e che poi assumono alla periferia aspetto cespuglioso; a poco a poco però la colonia si dista nella gelatina fusa e diventa sfrangiata e disgregata, mentre alla periferia dell'alone rimangono dei riccioli sparsi qua e là.

*In gelatina per iniezione*: fluidifica a cilindro, forma una pellicola sporca cerulea spessa, che si disgrega facilmente; non intorbida, e forma un sedimento granuloso, fiocoso.

*In agar*: si sviluppa come il *b. mesentericus* con una patina biancastra, secca, a volte lievemente farinosa, che può alquanto increscarsi.

*Su patate*: forma una patina bianco-sudicia, diffusa, increspata.

Ha gli stessi caratteri biologici dei germi precedenti. Alcuni lo hanno trovato patogeno nell'ambiente; altri lo hanno reso patogeno, il Silbersmith e il Kayser lo hanno ritenuto causa di panoftalmite nell'uomo.

Si assomigliano al *b. sottile*, il *b. leptosporus* e il *b. septicus*, i quali si differenzerebbero per il modo di germinazione delle spore. Nel *b. sottile* la germinazione avviene dall'equatore della spora, il *b. leptosporus* prima di germinare si circonderebbe di una capsula mucosa, e infine nel *b. septicus* la germinazione della spora avverrebbe nell'interno del bacillo stesso. Identici infine al *b. sottile* sarebbero il *b. implexus*, il *b. malariae* (!) e alcune *thyrothrix*.

3<sup>o</sup> col *b. dell'edema maligno* e col *b. del carbonchio sintomatico*.

— Nei primi tempi della scoperta del *b. del carbonchio ematico* si confuse con esso il *b. dell'edema maligno*: si deve al Pasteur di avere nettamente separati i due germi.

A parte il criterio anatomopatologico che può essere di grande aiuto nella diagnosi differenziale è certo che basta la prova coltu-

rale a stabilire una diagnosi differenziale poichè mentre il b. del carbonchio è aerobio, quello dell'edema maligno è anaerobio.

Ma del resto anche la prova microscopica può fare escludere la presenza dell'edema maligno, poichè basta colorare il materiale col metodo del Gram, al quale il b. dell'edema non resiste, mentre quello del carbonchio vi resiste.

Del resto vi è una serie di altri caratteri relativi alla prova colturale e all'azione patogena per i quali rimando alla descrizione dell'edema maligno.

In quanto ad una diagnosi differenziale col b. del carbonchio sintomatico è assolutamente ovvia (v. carbonchio sintomatico).

### B. dell'edema maligno.

Dalle ricerche, continuate per anni, di Schattenfroh e Grassberger sembra doversi ritenere che tanto il b. dell'edema maligno quanto quello del carbonchio sintomatico fanno parte del gruppo dei bacilli dell'acido butirrico. Esso sarebbe così composto:

1° *Bacillo dell'acido butirrico mobile* (*Amylobakter*). Fermenta esclusivamente gli idrati di carbonio, non attacca le albumine e non forma dalle stesse idrogeno solforato in quantità considerevole.

2° *Bacillo del carbonchio sintomatico e dei flemmoni gassosi sporigeno od asporigeno* (bacillo dell'acido butirrico immobile). Fermenta gli idrati di carbonio intensamente, produce idrogeno solforato, ma raramente però una decomposizione profonda delle albumine. Dagli idrati di carbonio, nello stato sporigeno, produce specialmente acido butirrico; nello stato asporigeno principalmente acido lattico.

3° *Bacillo dell'edema maligno*. Produce fermentazione degli idrati di carbonio e di più anche putrefazione. Dagli idrati di carbonio dà acido lattico e costantemente alcool etilico.

4° *Bacillo butirrico della putrefazione* (*b. putrificus coli* di Bienstock, *b. cadaveris*?). Fermenta gli idrati di carbonio ed è causa costante di putrefazione. Dagli idrati di carbonio produce specialmente acido lattico e costantemente alcool etilico.

Recentissime ricerche del Kofella dimostrerebbero la costante presenza dei principali rappresentanti di questo gruppo nei formaggi duri.

### Caratteri morfologici.

Il b. dell'edema maligno (*vibrion séptique*, *b. septicus gangre-*



fig. 203.

*nae*) è un germe lungo e grosso, a estremi piuttosto piani, mobile, perchè peritrico (fig. 203, sporigeno solo nei cadaveri e nell'am-

biente, raramente nell'organismo vivo; nel suo interno e un poco verso un estremo, si origina la spora la quale deforma poco o nulla il germe (fig. 204).

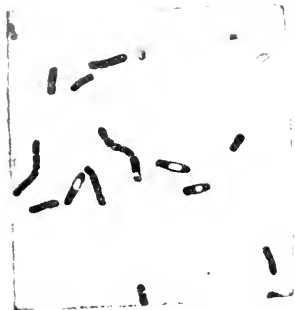


fig. 204.

Al Gram tipico non resiste: si può però avere una leggera colorazione violetta del corpo batterico quando non si proceda alla colorazione di contrasto. Anche se all'alcool si sostituisce l'olio di anilina non resiste: secondo noi, tutti quei trattatisti che lo hanno detto resistente hanno usato o altri colori (violetto di metile) o altri mordenti

(ac. fenico), il che vuol dire non usare più il metodo del Gram.

### Caratteri culturali.

Si sviluppa in tutti i substrati, naturalmente in anaerobiosi: ha un ottimo di sviluppo a 37°, si sviluppa però ancora a 40° e secondo alcuni a 41°.

*In gelatina a piatto* forma colonie rotonde che viste ad occhio nudo appaiono come bolle a contenuto finamente granuloso, torbido: a lungo andare poi i granuli si depositano al fondo delle bolle.

*In gelatina per infissione* si forma lungo la linea d'innesto come una serie di saecocce torbide (fig. 205), le quali poi si fondono fra loro formando un unico sacco a contenuto torbido, con sedimento granuloso: si svolgono anche numerose bolle di gas, che se si trovano a contatto dei germi vengono da questi invase e così la fusione della gelatina diviene più rapida.

*In agar per infissione* forma un nastro spesso a bordi lobulati o sfrangiati con molte bolle di gas che spezzettano il cilindro (V. fig. 213).

*Su agar a becco di flauto* si forma una patina molto sottile, appena visibile in primo tempo e dopo di color bianco sporco: alla periferia si osservano aloni lievemente pieghettati.

*Il brodo* è intorbidato: vi si produce un deposito fioccoso, ma non pellicola.

*Il latte* non è coagulato, solo alle volte si nota una precipitazione della caseina in granuli.



fig. 205.

### Caratteri biologici.

Possiede l'enzima proteolitico, l'inversivo, il diastatico, produce indolo e gas. È patogeno: nell'uomo produrrebbe la gangrena gassosa fulminante o setticemia gangrenosa o risipola bronzina; causa una setticemia tipica nelle cavie e nei conigli.

Il brodo privo di germi non è quasi mai tossico; lo è quando al decantato si aggiunge il prodotto della pressione del sedimento: perciò il veleno potrebbe essere riportato ad una proteina.

Il Besson avrebbe trovato tossici anche i filtrati delle brodo-culture seminati con sierosità di cavie morte di setticemia da edema maligno. Si tratterebbe però sempre di una tossina molto debole perchè in dose di 3-5 cmc., il filtrato non darebbe luogo che a fenomeni passeggeri: ne sarebbero necessari per ottenere la morte degli animali da 5 a 10 cmc. per cavie del peso di 300-400 gr. inoculandole nel peritoneo.

All'autopsia si troverebbe l'intestino iperemico, il peritoneo di color rosso ortensia e nel cavo peritoneale un po' di sierosità sterile.

Si è anche tentato di ricercare un veleno nella sierosità e nel succo degli organi, ma si sono trovati materiali che non hanno un'azione velenosa degna di nota.

Qualche animale muore: però conviene inoculare 30-40 cmc. di filtrato nel peritoneo; a me consta anzi che conducendo le esperienze con la più grande cautela gli organi degli animali infetti si diportano precisamente come quelli dei sani.

Inoculando le colture e le sierosità di animali morti di setticemia da edema maligno, in animali recettivi (cavie, sorci e meno bene i conigli e i topi bianchi) nel sottocutaneo, si forma un edema diagnosticabile al tatto, e l'animale muore in 12-24 h. All'autopsia si trova la muscolatura arrossata, infiltrata di siero e di bolle di gas; il peritoneo contiene del siero ematico, la milza è ingrossata, spappolabile.

In tutti gli organi e nella sierosità si trovano bacilli filamentati: pochissimi però nel sangue, dove secondo alcuni penetrerebbero e si moltiplicherebbero solo dopo la morte. In ogni caso il bacillo non si trova sporificato, ammenochè l'autopsia non venga fatta varie ore dopo la morte.

### Diagnosi.

ISOLAMENTO. — Il b. dell'edema maligno si ricerca negli animali e nel terreno.

1° *Nell'organismo animale* si ricerca nelle sierosità, dove si trovano bacilli lunghi, sottili, a filamenti, non resistenti al metodo del Gram, non sporificati (fig. 206).

Questo reperto, unito alle note anatomiche, può già condurre alla diagnosi; si può però aggiungere il criterio della mancata coltivazione in aerobiosi, nonchè quello della sua azione patogena, la sierosità essendo tanto virulenta che  $\frac{1}{100}$  di cmc. uccide benissimo una cavia.



fig. 206.

Quando l'animale sia morto da vario tempo, si possono trovare i bacilli quasi tutti sporificati: in tal caso, se l'esperimento negli animali riesce negativo perchè le spore sono state inglobate dai leucociti, si può inoculare insieme ad esse un po' di acido lattico oppure unirvi un po' di coltura di prodigioso che è uno dei germi che agisce ugualmente.

Se insieme al b. dell'edema maligno si trovano altri germi della putrefazione, protei, coli, ecc., è bene, prima di procedere alla inoculazione negli animali, di porre il materiale a bagno maria a 65° per qualche ora, poi seminare il materiale stesso in brodo in anaerobiosi e servirsi delle brodculture per l'inoculazione.

2° *Nel terreno*, si suole consigliare, per ricercarlo, di inoculare un po' di terra di giardino o di strada sotto la cute di una cavia: però l'esperienza non sempre riesce, per la presenza di altri germi patogeni come quello del *pseudoedema maligno* del Sant'Elce.

È meglio quindi sbattere il terreno in acqua sterile, tenerlo alquanto a bagno maria a 80° e poi inoculare l'acqua di lavaggio con l'aggiunta di qualche goccia di acido lattico.

In qualche caso rimangono vive le spore di altri anaerobi patogeni, come quelle del b. del tetano, per cui l'animale può morire di tetano; però all'autopsia si rinverranno i bacilli negli organi dove non si trovano mai quelli del tetano.

Se nel terreno si trovano spore del b. del carbonchio sintomatico, quando si usi il coniglio come animale da esperimento, non possono portare nocimento, perchè tale germe non è patogeno per questo animale.

Del resto, una volta morto l'animale, si può procedere ad ulteriori ricerche come nel caso si dovesse ricercare il bacillo in animali sospetti d'esser morti di edema maligno.

**DIAGNOSI DIFFERENZIALE.** — 1° *Col b. del carbonchio sintomatico.*

A prima vista sembrerebbe assai facile stabilire una diagnosi differenziale tra i due bacilli: però nella pratica spesso si rimane indecisi, specialmente quando si voglia tener presente un solo carattere differenziale.



Quando si rimanga in dubbio, si ritiene basti inoculare la coltura in conigli: se muoiono si tratta di edema maligno; se non muoiono si tratta di carbonchio sintomatico; però non bisogna fondarsi molto su questa prova perchè spesso volte i conigli sopportano benissimo l'inoculazione dell'edema maligno.

In ogni caso è bene ripetere l'inoculazione nelle cavie e fare preparati dall'edema: quivi il b. del carbonchio sintomatico non si trova mai in filamenti, al contrario di quello dell'edema maligno: esso inoltre lo si trova nei muscoli sporificato, e presentante molte forme involute.

Potrebbe anche accadere di trovare un b. dell'edema maligno che non formasse lunghi filamenti nell'edema, come accadde al Kerry: però facendo passaggi con le sierosità da animale ad animale, se si tratta di edema maligno, si finisce col trovare.

È inutile poi ricorrere alla prova del Gram perchè non è vero che il b. del carbonchio sintomatico vi resista, al contrario dell'edema maligno, come alcuni credono.

## 2° Con altri germi simili al b. dell'edema maligno.

Quando si inocula del terreno in cui si sospetti la presenza dell'edema maligno, o quando lo si ricerca nelle feci in organi gangrenosi o nei materiali in putrefazione, è necessario di saper distinguere il b. dell'edema maligno da altri germi a esso simili.

Nel terreno si trova comunemente il b. del pseudodema (*anaerobio VIII del Sanfelice*) o b. del pseudodema settico.

Esso ha molti punti di contatto col vero b. edema maligno, ma è più grosso e nell'organismo facilmente si incapsula, tanto che v'è chi ha pensato che potrebbe avere qualche legame col *proteus hominis capsulatus* del Bordini Uffreduzzi che è anaerobio facoltativo: del resto è poco patogeno e produce, se inoculato, solo un ascesso sottocutaneo.

Nell'intestino si trova il b. *enteritidis* che fu trovato in casi di diarrea e in cani di animali infetti. Esso è morfologicamente simile all'edema maligno: se ne differenzia però colturalmente, perchè produce colonie trasparenti, nel cui interno si sviluppa una bolla di gas. Inoltre, seminato in latte, questo, dopo 64 h diventa trasparente, e solo in superficie si forma qualche grumetto bianco.

Infine, seminato su patate, produce una patina giallognola.

È patogeno per i sorci, le cavie e i topi, che presentano una forte enterite a preferenza dell'intestino tenue, con emorragie e persino ulcerazioni.

Nelle materie in putrefazione si trovano poi germi che somigliano al b. coli, e sono: i b. *piogeni anaerobi*: uno di questi è il b. *cadaveris* dello Sternberg che si trova nei cadaveri di morti di febbre gialla.

Sono germi sempre filamentosi che hanno quasi tutti i caratteri del b. coli.

In casi di gangrena sono stati trovati poi molti germi, cioè:

il b. *EMPHYSEMATOSUS* di Fränkel, che apre la serie dei germi della gangrena, riuniti in un unico gruppo dal Veillon, cioè:

il *coccolacillus*, isolato da pericistiti; è un germe piccolo, corto e tozzo, esaminato nel pus: più allungato nelle colture, nelle quali dà colonie rotonde, molto piccole, fetide;

il b. *nebulosus*, isolato da suppurazioni delle vie genito-urinarie: forma colonie nebulose con un nucleo centrale, un alone nebuloso: esso non resiste al Gram, e non si sviluppa sotto 37°;

il b. *perfrigerans* si avvicina più di tutti all'edema maligno: è un bacillo lungo, grosso, immobile, che resiste al Gram, capace di capsularsi: dà colonie piccole, streptococciformi.

brune, e svolge molto gas: sarebbe molto patogeno specialmente per le cavie, nelle quali darebbe origine a un vero flemmone (b. della gangrena flemmonosa):

il *b. ramosus*, isolato da oti e appendiciti: è capace di filamentarsi e ramificarsi; dà colonie simili a quelle del *perfrigerans*, ma giallicce:

il *b. fragilis* è il più simile al *coccobacillus*, ha forme tendenti all'ovale, tanto che alcuni lo ritengono un diplococco: realmente è un bacillo ad estremi molto refrangenti, che si colorano intensamente: ha uno sviluppo scarsissimo e resiste poco a 37°:

il *b. fuscus* ha forme a T e il suo sviluppo è identico a quello del *b. fragilis*:

il *b. fusiformis* ha forme fusate e si sviluppa come il *b. coli*:

il *b. tettoides* o *funduliformis* ha forme a  $\Theta$ , ed è quindi ovoide, con una parte centrale più densa che si colora di più: dà colonie trasparenti e molto sottili:

il *b. serpens* o *radiiformis* è mobile con movimenti serpentinati ondulatori: forma colonie con prolungamenti periferici come il proteo.

Nelle carni putrefatte insaccate si può poi trovare il così detto *B. BOTULINUS* di Van Ermengen, che è creduto causa del botulismo.

È un germe molto lungo e grosso, con spore terminali ovali od allungate, poco resistenti al calore ed agli agenti chimici, poste verso il centro del germe, il quale resiste al Gram ed è poco mobile (possiede 4-8 ciglia fine disposte perifericamente). Le colonie trasparenti col tempo diventano brunastre alla periferia e si dice siano formate di granuli rifrangenti mobili in massa.

Per infissione forma un nastrino discontinuo, fatto di masse rotonde da cui emanano prolungamenti dendritici: vi produce gas.

Coltivato su agar ha uno sviluppo quasi invisibile e così pure su patate.

Nelle piastre in gelatina glucosata le colonie giovani sono assai caratteristiche: rotonde, giallognole, composte di grossi granuli che mostrano una mobilità continua. Attorno alle colonie si forma un alone di gelatina liquefatta; più tardi esse aumentano in volume, diventano brunastre ed opache, raggiate alla periferia ove si trovano pure dei frammenti granulari mobili.

Le colonie più vecchie si allargano, intrecciano i loro prolungamenti a gruppi o disordinatamente, oppure talvolta come in una margherita.

Le colture in brodo glucosato, in carne macerata, ecc., danno una grande quantità di gas ( $H_2, CH_4$ ). Tutte le colture di bacillo botulino hanno odore rancido e come di acido butirrico: non sono però fetenti come quelle di altri anaerobi.

Il latte non viene coagulato. Lo zucchero di latte e di canna sembra rimangono inalterati.

Il *b. botulino* si sviluppa bene tra i 18°-25°. Fra i 35°-37° cresce stentatamente, dà forme d'involuzione e, a questa temperatura, non produce tossina. Esso forma spore endogene terminali di forma ovale allungata se viene coltivato a temperature medie. Le spore sono poco resistenti.

Il *b. botulino* non sopporta nemmeno tracce di acidi aggiunti ai terreni di colture.

Anche il sal comune in proporzioni del 5-6 % ne impedisce lo sviluppo.

Esso produce una tossina potentissima: la dose letale per i conigli con iniezione sottocutanea sta tra 0,0005-0,0001. Più interessante però è che, contrariamente a quasi tutte le tossine finora note, la tossina in questione dà sintomi gravissimi introdotta per la bocca anche in piccole dosi. Con

detta tossina si possono riprodurre negli animali (specie gatti e colombi), tutti quei sintomi che nella patologia umana si conoscono col nome di botulismo. Fra gli animali più sensibili vanno ricordati i topi, mentre le rane ed i pesci sembra che abbiano una assoluta refrattarietà.

Gli studi più completi delle alterazioni prodotte dal bacillo botulino sui centri nervosi sono quelli del Marinesco.

## B. del carbonchio sintomatico.

### Caratteri morfologici.

Il b. del carbonchio sintomatico (*b. carbonis*, *b. sarcophysematos*, *b. Chauraei*) è un germe lungo e grosso, disposto generalmente a due od isolato, quasi mai in filamenti, capace di sporificare in tutti i substrati culturali e nell'organismo, specie nei muscoli: la spora si forma nel mezzo e talora un po' verso uno degli estremi, deformando poco o nulla il germe (fig. 207).

Secondo Schattenfroh e Grassberger, il b. del carbonchio sintomatico avrebbe due forme di sviluppo: una, asporigena, nella quale i bacilli sono immobili e senza ciglia, non producono sostanze tossiche solubili, causando soltanto flemmoni gassosi, sono privi di



fig. 207.

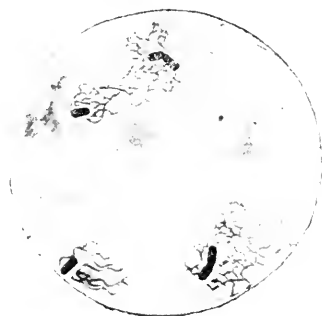


fig. 208.

granulosa e non attaccano l'acido lattico. La seconda forma sarebbe sporigena, darebbe la reazione della granulosa, di più sarebbe immobile; trasformerebbe l'acido lattico in acidi volatili e produrrebbe tossine solubili.

È un po' mobile e fornito di ciglia (fig. 208): non resiste al metodo originale di Gram; rimane però lievemente colorato in viola quando si protragga la colorazione nel liquido di Ehrlich, e si tenga poco nel liquido di Lugol, evitando poi di fare la colorazione di contrasto; resiste al metodo di Kühne e di Claudius.

### Caratteri colturali.

Si sviluppa anaerobicamente in tutti i terreni colturali.

In *gelatina a piatto o per infissione*, dà colonie da prima puntiformi, finamente granulose, le quali sono raggiate alla periferia e in seguito diventano come piccole saccocce a contenuto torbido, le quali viste al microscopio, mostrano un nucleo granuloso dal quale partono raggi che raggiungono le pareti della saccoccia (fig. 209): conflueno poi le colonie, la gelatina si fonde in massa. Nell'infissione, la gelatina fusa diventa limpida con un sedimento granuloso e con bolle di gas (fig. 210).

Su *agar* ha uno sviluppo appena percettibile, impercettibile invece su *patate*.

Il *brodo* è dapprima intorbidato, ma dopo 2 o 3 giorni diventa limpido e presenta un deposito granuloso.

### Caratteri biologici.

In coltura svolge odore di acidi grassi, specialmente di ac. butirrico (questo si forma in maggior copia coltivando il bacillo su terreni zuccherati); dà luogo a  $H^2 S$  e ad indolo.

È molto patogeno per alcuni animali (montone, bue, cavia), poco per altri (capra, asino, cavallo), non lo è affatto per conigli, i sorei, i cani, il gatto, il porco, gli uccelli.

I conigli però possono diventare molto suscettibili o diminuendo la loro resistenza organica, ovvero inoculandoli coi così detti batteri coadiuvanti come il b. piocianeo, il b. fluorescente, il prodigioso, siano essi vivi o morti. Esso produce una tipica setticemia, con edemi crepitanti, siero-sanguinolenti: la muscolatura presenta un colorito rosso cupo; i gangli sono ingorgati; nel peritoneo evvi un po' di liquido sieroso; l'intestino è iperemico, la milza è quasi normale. Alcuni dicono che produce una tossina la quale si otterrebbe decantando una brodo-coltura e che sarebbe, cosa inverosimile, trattenuta dalla carta da filtro.

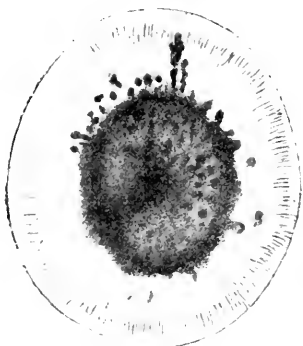


fig. 209.



fig. 210.

È però più esatto ritenere produca una tossiproteina poiché le brodoculture molto vecchie sono attivissime e in 2-3 h. uccidono l'animale, inoculate in dose di 2-3 emc. Certo filtrate alla candela, anche le brodoculture più tossiche perdono molto della loro tossicità tanto che occorrono non meno di 5 emc. inoculati nel peritoneo di una cavia, per ottenerne la morte.

### Diagnosi.

IDENTIFICAZIONE. — Come il b. dell'edema maligno esso si ricerca negli animali e nel terreno.

1° *Nell'organismo animale* si ricerca nella sierosità.

Per la diagnosi parrebbe dovesse bastare l'esame microscopico della sierosità; però è sempre bene procedere anche all'innesto di essa nel sottocutaneo di una cavia e di un coniglio: la prima muore presentando il noto tumore, dove sono dimostrabili i germi non disposti in filamenti; non coltivabili in aerobiosi; il secondo sopravvive.

Nel sangue non si devono trovare germi, se l'animale è morto da poco tempo; nella milza si trovano, ma non disposti a filamenti; nel succo dei muscoli si debbono rinvenire forme anormali vacuolate e anche sporificate.

Nel caso che l'animale sia morto da lungo tempo o sia in preda a fenomeni putrefattivi si opera come per la ricerca del b. dell'edema maligno.

2° *Nel suolo* si ricerca, come quello dell'edema maligno, sempre tenendo presente di inoculare il materiale sporigeno, insieme a un po' di acido lattico, in cavie e conigli; debbono morire le sole cavie; non i conigli.

Si possono dall'essudato prodottosi localmente coll'inoculazione del terreno fare colture anaerobiche nel brodo di Martin, perchè, secondo Leclainche e Vallée, 3-4 gocce di una coltura giovane in questo liquido uccidono una cavia di 500 gr. in 18-24 ore. Oppure si possono prendere dei pezzetti di muscoli, essicarli in un essiccatore, pestarli in un mortaio, e poi riprenderli con acqua sterilizzata. Quest'acqua si tiene a 60°-65° per qualche tempo (1-2 ore) e si innesta nel brodo.

Si può anche infine usare la polvere di Arloing. A tal uopo i muscoli si tagliuzzano finamente, si aggiungono col triplo di acqua sterilizzata, pestandoli in un mortaio man mano che questa si aggiunge, si filtra alla tela il succo e, postolo in piatti di porcellana, si essicca a 35°. Si raccoglie quindi l'essiccato e si pesta bene.

In genere il materiale così ottenuto è molto virulento (anche dopo anni) e serve bene per l'inoculazione.

DIAGNOSI DIFFERENZIALE CON ALTRI GERMI DEL SUOLO. — Nel suolo si possono trovare dei germi che hanno analogia con quello del carbonchio sintomatico.

Uno è l'*Panaerobio VIII* di Sanfelice o b. del pseudocarbonchio sintomatico, che pare identico al così detto b. di Klein isolato da un montone morto di carbonchio.

Esso è molto più mobile del *b. del carbonchio sintomatico*, ed è pure sporigeno: ma ogni germe spesso contiene 2 spore. Si differenzia dal vero carbonchio sintomatico, perchè in gelatina forma colonie bruno-giallastre con prolungamenti raggiati non regolari. Non è patogeno: al più produce una modica infiltrazione locale. Secondo alcuni sarebbe simile al *b. spinosus* del terreno, ma questa forma lunghi filamenti e nelle colonie produce prolungamenti rettilinei.

Altri germi hanno solo lontana analogia col *b. del carbonchio sintomatico*. Vanno notati i *bacilli anaerobi dell'acido lattico* che costituiscono un gruppo di forme interessanti dal punto di vista economico: il più comune e ben definito è il *b. acidi lactici* di Bötkin che è un bacillo lungo, grosso, facilmente disposto a catena, molto resistente al Gram, molto mobile, che forma molte spore e si coltiva solo a 27°, dando colonie a bordi ondulati, dai quali, in seguito, emanano filamenti che si intrecciano. Coltivato nel latte, lo coagula rapidamente producendo un aere odore di acido butirrico con molte bolle di gas, poi discioglie il coagulo. Coltivato su pappa di patate o di riso rapidamente trasforma l'amido in zucchero, trasformando poi questo in acido butirrico.

In quanto agli altri germi essi fanno parte del gruppo di germi del suolo (vedi Parte III, Esame batteriologico del suolo).

## CAP. IX.

### PLETTRIDI.

I plettridi sono forme allungate sporigene, nei quali la spora si forma all'estremo del germe, per cui questo assume l'aspetto di una bacchetta di tamburo o di spillo o di chiodo.

Alcuni sono aerobi, altri anaerobi. Tra questi ultimi si trova il

#### B. del tetano.

##### Caratteri morfologici.

È un bacillo lungo, sottile, dritto, mobile, peritrico quando è giovane, flagellato quando è vicino a sporificare. Le spore si formano facilmente alla temperatura di 37° in 24-48 h. (fig. 211).

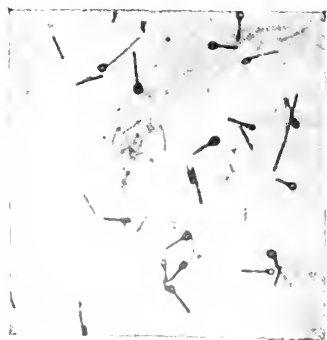


fig. 211.

##### Caratteri culturali.

Si coltiva bene a 37°, ma ancora alle temperature estreme di 14°-43°, specialmente in difetto di ossigeno. Secondo alcuni sarebbe aerobio facoltativo: però, coltivato in aerobiosi, salvo eccezioni, perderebbe la sua tossicità.

In gelatina a piatto forma colonie puntiformi finamente granulose, d'aspetto nubecolare, da cui emanano finissimi raggi. Cresce

fluidificando lentamente la gelatina, e la fluidificazione comincia in genere all'ottavo giorno in corrispondenza delle irradiazioni: al decimo giorno tutta la colonia appare immersa come in una nube di gelatina fusa, al cui centro v'è una parte granulosa da cui partono raggiate, che in alcuni punti sono più appariscenti: esse costituiscono ammassi di filamenti disposti a cavaturacciolo.

*In gelatina per infissione* lo sviluppo è identico: solo le singole colonie, confluendo, determinano una fusione completa della gelatina, e la confluenza è facilitata anche dal notevole sviluppo di bolle di gas che spezzano il cilindro. La gelatina fluidificata è limpida con sedimento granuloso.

*In agar per infissione* forma un nastrino a bordi dentellati, per cui assume un aspetto squamoso che ricorda quello di altri anaerobi (fig. 212): se l'innesto è discontinuo, allora si hanno le così dette



fig. 212.



fig. 213.

colonie a pannocchia, costituite da un punto centrale, da cui partono numerosi raggi diretti in basso. Si può però sviluppare anche come un semplice nastrino: il cilindro di gelatina viene a essere spezzato da bolle di gas come negli altri anaerobi (fig. 213).

*In agar a becco di flauto* lo sviluppo è scarso ed è costituito da una pellicola sottilissima, traslucida, trasparente.

*Sulle patate* lo sviluppo è un po' più visibile.

*Il brodo* è intorbidato leggermente.

*Il latte* non è coagulato: la sua reazione rimane anfotera: pare però che le varietà più tossiche lo coagolino.

*Sul siero* si sviluppa come sulle patate, e le varietà più tossiche pare lo fondano.

### Caratteri biologici.

Produce  $H^2S$  e molti acidi grassi nei terreni glucosati; poco indolo quando è molto virulento, di più se attenuato.

È dotato di un enzima proteolitico e batteriolitico.

Esso è patogeno per i cavalli, le cavie, i topi, l'uomo, meno per i conigli e le pecore, niente per i polli e per gli animali a sangue freddo. Uccide senza diffondersi in circolo, per la produzione di una tossina che riproduce negli animali fenomeni convulsivo-tetanici.

La tossina è capace di uccidere gli animali, iniettata in dosi imponderabili: così p. es. basta, liquida,  $\frac{1}{21000}$  di cme. per uccidere una cavia e  $\frac{1}{100000}$  di cme. per uccidere un sorcio.

Inoculando il b. del tetano per la via sottocutanea ed endovenosa, si hanno risultati positivi; per la tracheale e l'intestinale negativi. La sua virulenza, secondo Kitasato e Sanfelice, sarebbe molto stabile. Rigbi avrebbe ottenuto l'attenuamento coltivandolo aerobicamente; l'attenuamento, mediante agenti chimici, sarebbe spesso passeggero. Riguardo al quadro morboso cui dà luogo, si ha che: il topolino iniettato alla gamba posteriore sinistra, anche con quantità minima di coltura (quella che può aderire al filo di platino), presenta, dopo 12 ore circa, aumento di riflessi e rigidità del gruppo muscolare adiacente, poscia della coda che si presenta rigida e ripiegata in alto sul dorso, poi della gamba destra: la morte si ha in 24-48 ore, con paralisi degli arti posteriori distesi all'indietro, in posizione di foca (Ribbert): se però la quantità iniettata è troppo piccola, si può ottenere un tetano cronico guaribile. Le colture pure non producono localmente che una chiazza emorragica sottocutanea, e un leggero ascesso le colture impure. Col materiale preso dal cadavere dell'animale, si può riprodurre il tetano in serie.

I bacilli non si trovano che nel punto d'innesto e in scarso numero, tutt'al più eccezionalmente sono stati trovati nelle glandole linfatiche vicine.

Il quadro morboso, susseguente ad iniezioni di colture, è dato quasi esclusivamente dalla potente tossina. Le spore, liberate della medesima mediante lavaggio e riscaldamento a 80° C, sarebbero innocue (Vaillard e Roget).

Per lo sviluppo del bacillo dalle spore inoculate negli animali è necessario mescolarle con altri microrganismi anche banali. Non per la rapidità d'azione (agisce non prima di 8-10 ore, più tardi del veleno dei serpenti e molto più tardi degli alcaloidi), ma per la imponderabilità della dose letale, e il veleno più potente che si conosca.

Le colture in agar sono più tossiche di quelle in brodo. Questa tossina si comporta verso i vari agenti così: è distrutta in presenza di acqua a 60° C in  $\frac{1}{2}$  ora (Tizzoni), od a 55° in un'ora (Fermi); a 80° C perde l'attività in presenza di etere o di cloroformio, resiste invece nell'alcool amilico e nel benzolo per venirvi distrutta completamente a 100° (Fermi). In



assenza di acqua resiste un'ora a 120° e viene distrutta a 150° (Fermi). In presenza di acqua alla luce solare diretta, alla temperatura massima di 54°-56° C. dell'actinometro, viene distrutta in 8-10 ore, a 37° C. in 15 ore. Passa attraverso il filtro Chamberland. Dializza lentamente come il peptone, più rapidamente della tossina difterica, meno del veleno dei serpenti, e molto meno degli alcaloidi contenuti nei succhi vegetali (Fermi).

È solubile nell'acqua: non nell'etere, cloroformio, solfato di ammonio, cloruro di zinco. Viene distrutta dal succo gastrico come avviene per il veleno della difterite e dei serpenti, contrariamente a quello che accade per gli alcaloidi. Intra vitam viene distrutta dalla mucosa intestinale, ciò che non avviene per gli alcaloidi vegetali. Resiste agli enzimi, è dubbio però se al succo pancreatico. Sulla sua natura chimica si discute ancora.

Riguardo al meccanismo d'azione, essa agisce sul sistema nervoso, come la stricnina.

Si è voluto affermare che la tossina possa dimostrarsi in tutti gli organi e nell'urina dei tetanici: però la nostra esperienza personale sul riguardo è decisamente contraria. Io avrei infatti trovato che nei succhi degli organi degli animali in preda all'infezione tetanica o morti di tetano, non sono coi procedimenti comuni (inoculazione dei succhi in cavie sane) dimostrabili le relative tossine e che la tossina tetanica, come la abrina e la tossina difterica, inoculate nelle cavie in dosi mortali, non si trovano nel succo degli organi: si rinvengono però ove siano state inoculate in quantità molte volte mortali.

Per trovare il veleno tetanico negli organi per quanto risulta dalle ricerche, essi vanno spapolati ed estratti preferibilmente con soluzioni alcaline, inoculando poi il precipitato alcoolico, seccato.

Seguendo questo procedimento si dimostra il veleno tetanico trovarsi solo nel sistema nervoso centrale degli animali da esperimento infetti o morti, e dell'uomo. Nel sangue dell'uomo in vita e nell'urina io non sono riuscito a dimostrare alcun veleno, o almeno una dose tale da dare sintomi tetanici nelle cavie: del resto il Pasquini aveva veduto del pari che il veleno tetanico non era dimostrabile nel sangue degli animali di recente morti per tetano, nè nel succo di tutti gli organi, salvo nel cervello donde lo estrasse col metodo da me proposto.

E potè anche persuadersi (e questo è molto importante), che in quei casi in cui si riproducessero fenomeni tetanici coll'inoculazione di succhi d'organi diversi, salvo poche eccezioni, nel sito di inoculazione, con esami microscopici e con colture, si dimostrava la presenza del bacillo del tetano.

### Diagnosi.

IDENTIFICAZIONE. — Il bacillo del tetano si ricerca nell'organismo animale e nel terreno come gli altri anaerobi patogeni.

1 *Nell'organismo animale* la ricerca si fa nella ferita (pus, false membrane) facendo molti preparati colorati, alcuni con la fucsina fenica, altri col metodo del Gram; per la diagnosi è però necessario trovare i germi a capocchia di spillo resistenti al Gram.

Quando si rimanga in dubbio, un po' del materiale della ferita si inocula alla base della coda di topolini e precisamente in corrispondenza al sacro. Circa dopo 12 ore si nota aumento dei riflessi, rigidità della coda e degli arti inferiori che si distendono, mentre la coda si alza (posizione di foca).

In mancanza di topi si può fare l'inoculazione negli arti di cavie; gli animali presentano nel sito di inoculazione edema; gli arti dopo 2-4 giorni si irrigidiscono.

Nel sito di inoculazione si trovano edemi, spesso pus, false membrane, focolai necrotici, poiché è ben difficile che non si sia inoculato il b. del tetano insieme ad altri germi. Facendo preparati si trova però il bacillo capocchiato, e la diagnosi, atteso anche il quadro clinico presentato dall'animale, può senz'altro stabilirsi.

Si possono anche tentare delle colture seguendo il procedimento del Kitasato modificato da Vaillard e Vincent, ma per giungere alla diagnosi occorre un tempo molto più lungo.

In ogni modo il materiale della ferita si inietta in brodo e si tiene a 38° per 5-6 giorni; si aspira del liquido con una pipetta e saldati gli estremi della pipetta alla fiamma si pone il tubo nella stufa di Koch per 1-2 minuti per uccidere tutti i germi che si trovano nella fase vegetativa, e far rimanere solo le spore. Si semina quindi il materiale in altro brodo ed eventualmente si ripete l'operazione indicata, per 2-3 volte, esaminando volta a volta il contenuto delle brodocolture per vedere se si trova il bacillo del tetano coi suoi ben noti caratteri.

Qualora lo si trovi ancora mescolato ad altri germi si possono fare delle colture in anaerobiosi a piatto o col metodo del Veillon (diluendo il materiale in agar e aspirando questo in un lungo tubo i cui estremi si saldano alla lampada). Quando si è ottenuto lo sviluppo di colonie si guardano al microscopio e quelle a contorno a cavaturacciolo si isolano rompendo il tubo nel luogo preciso e si inestano in altri brodi, o meglio nel sottocutaneo di cavie. Allorché queste presentano sintomi di tetano si uccidono e dal sottocutaneo si isolano i germi in coltura pura in condizioni anaerobiotiche.

Da ultimo si può anche dimostrare la presenza del tetano in colture impure, come fa il Sanfelice. A tal uopo le brodocolture fatte col materiale inestato si tengono a lungo in termostato (8-15 giorni) e poi si filtrano alla candela e si inietta il liquido che naturalmente contiene la tossina tetanica. Siccome poi questa facilmente si diffonde nell'organismo, si sceglie per luogo di inoculazione la base della coda di un topo, dove l'assorbimento si fa adagio; si ottiene così la rigidità della coda e degli arti posteriori e poi la morte dell'animale.

In molti casi però la porta d'entrata del bacillo del tetano non si trova; si parla difatti anche di un tetano traumatico che secondo alcuni dipenderebbe dalla penetrazione del bacillo attraverso l'intestino.

In tali casi la diagnosi batteriologica del tetano con la ricerca del bacillo non si può fare; si può ricorrere alla prova sierodiagnostica se si tratta di tetano umano, perché il siero del tetano non ha potere agglutinante sul bacillo del tetano.

Solo il siero di cavallo, che in genere ha normalmente un potere agglutinante nel rapporto 1:100, muove quando l'animale è infetto, il potere agglutinante sino all'1 su 50.000.

2° *Nel suolo* il bacillo del tetano si può dimostrare inoculando il terreno direttamente in una tasca dorsale fatta in un topolino o in una cavia, attendendo l'insorgere di sintomi tetanici; ma questo metodo di dimostrare il b. del tetano nel terreno è spesso fallace per le impurità del materiale inoculato.

È quindi meglio sbattere il terreno in una certa quantità di acqua sterilizzata e porre il recipiente in un bagnomaria a 80° per 1/2 ora, come fa Kitasato, e poi inocularlo: oppure, siccome a quella temperatura spesso si ottiene un'attenuazione del germe, tenerlo semplicemente 10 minuti a 60°-65° e poi inocularlo. Se si svolgono fenomeni tetanici e si vuole essere assolutamente sicuri della diagnosi, si possono continuare le ricerche come se si trattasse di ricercare il b. del tetano nelle ferite.

È stato consigliato di trattare anche il terreno con acqua fenicata a 5% (Sanfelice e Marchesi) (1 gr. di terreno in 10 emc. di soluzione ferrica per 18 ore) o metterlo in un recipiente in contatto coi vapori di cloroformio; quest'ultimo procedimento dà risultati meno buoni.

Certamente però è utile il metodo indicato dal Sanfelice consistente nel fare brodocolture anaerobiche col terreno e poi filtrarle dopo 8-15 giorni, ed inoculare il filtrato che contiene la tossina tetanica.

Se le brodocolture si fanno con il terreno tenuto a 60°-65° per 10 minuti a me consta che riescono ugualmente bene e diminuisce molto il numero dei germi che accompagnano il b. del tetano nelle colture. Riesce pure adoperando l'acqua di lavaggio del terreno ottenuto col metodo indicato per l'esame batteriologico del suolo, sia tenendo quest'acqua a 60°-65° sia non tenendovela. Bisogna però innestare vari palloni di brodo, potendo accadere che in qualcuno non venga a capitare qualche spora tetanica, ammenoché non si posseda una centrifuga, perché allora basterà inocularne uno col centrifugato.

3° Nella *gelatina* del commercio, che deve servire a scopo terapeutico, Schmiedicke opera così: fonde dei tubi d'agar a bagno-maria, li lascia raffreddare a 40°-42° e poi vi getta dentro dei pezzetti della gelatina in esame (di circa 2 emq. di superficie), facendo in modo che vadano al fondo. Raffredda i tubi e li pone in termostato per 5-6 giorni, eppoi esamina ciò che si è sviluppato nel fondo del tubo per vedere se vi si trovano i b. del tetano. Si può anche perfezionare il metodo ponendo i tubi in recipienti con acido pirogallico e potassa e in cui si faccia il vuoto, oppure chiudere il tubo alla lampada appena dopo innestato.

**DIAGNOSI DIFFERENZIALE COI BACILLI TETANOSIMILI.** — Bacilli tetanosimili sono stati trovati in casi di tetano nelle feci, nel suolo, in materiali diversi. Essi sono i seguenti:

il *b. pseudotetanicus* di Kruse (*b. pseudotetanicus aerobius*) che è un anaerobio facoltativo o almeno non si sviluppa in anaerobiosi che ad alte temperature, alle quali sporifica. Esso si distingue dal b. del tetano non foss'altro perché non fluidifica la gelatina e non è patogeno L'A. l'avrebbe isolato da un caso di tetano umano.

il *b. pseudotetanicus* di Lubinski isolato da un ascesso addominale: esso è morfologicamente simile al b. del tetano, ma formerebbe colonie grinzose radiate ai margini, un'infissione con prolungamenti raggiati lateralmente al nastro. È un germe patogeno per i conigli, in cui produce raccolte sieropurulente con gas, e fatti necrotici; ma non è tossico.

il *b. pseudotetanicus o anaerobius IX* del Sanfelice che si trova nel terreno e negli infusi di carne: esso è morfologicamente molto simile al tetano, ma non tossico (pare però capace di divenirlo coltivato in liquidi contenenti la tossina tetanica). Forma colonie che si vedono in gelatina solo dopo 8-9 giorni come punti granulosi a raggiera, circondati da gelatina fusa.

Si citano anche:

*i pseudotetanicì aerobici* trovati nel suolo da vari autori: pare siano dei veri bacilli del tetano divenuti aerobici (Vincenzi-Valagussa). Passando per l'intestino degli animali tornerelbero anaerobi e tossici:

*i pseudotetanicì* trovati nei sieri, sembra non siano bacilli del tetano: certamente non sono tossici: ma occorrerebbero ulteriori ricerche per precisarlo:

*il b. gracilis* di Zimmermann si riscontra nel terreno e si assomiglia al tetano per il suo aspetto di pleotridio, ma le sue colonie sono sferiche, bianco-grigie coi bordi che si perdono nella gelatina, la quale viene fluidificata in genere verso la 2<sup>a</sup>-3<sup>a</sup> settimana. Nell'infissione lo sviluppo è limitato al menisco e per il breve tratto di 1½ mm. sotto di esso: non è un germe patogeno.

## CAP. X.

### CLOSTRIDI.

Il gruppo dei clostridi ha poca importanza dal punto di vista della patologia. Ne ha invece molta per ciò che si riferisce alle fermentazioni: in realtà si tratta generalmente di batteri zimogeni. Basterà ricordare il *fermento butirrico del Pasteur* (*b. butyricus*, o *b. amylobacter*, o *clostridium butyricum*): il *clostridium foetidum*, ecc.

Per alcuni il *b. del carbonchio sintomatico* dovrebbe collocarsi in questo gruppo; ma, in realtà esso non ha la forma tipica del clostridio.

Così pure non può trovare posto tra i clostridi (dove almeno potrebbe collocarlo per comodità didattica) il così detto *bacillo fusiforme di Vincent-Bernheim*, che è stato di recente studiato dal Rodella.

Dice il Rodella:

È noto che il Vincent descrisse una forma di angina che egli chiamò a « bacilles fusiformes » angina che suddivise poi nella forma pseudo-difterica ed ulcero-membranosa.

Microscopicamente, sempre secondo Vincent, sarebbe la forma pseudodifterica caratterizzata dalla quasi esclusiva presenza di bacilli fusiformi che sono lunghi 8-12 emc., e talora assai ricurvi.

Nella forma ulcero-membranosa si troverebbero accanto ai bacilli ora nominati anche dei spirilli che rassomigliano perfettamente allo spirochete dei denti. Tanto i bacilli che gli spirilli si decolorano col metodo di Gram e sono incoltivabili.

Quest'angina di Vincent venne successivamente osservata e descritta da parecchi autori, i quali più o meno esplicitamente affermarono o per lo meno ammisero che i bacilli fusiformi di Vincent avessero prodotta la malattia e fossero anzi gli agenti specifici della malattia stessa.

Quasi contemporaneamente al Vincent il Bernheim e poi il Bernheim e Pospischill in più che 30 casi di stomatite trovarono quale reperto batteriologico dei microorganismi che vennero poi identificati con quelli del Vincent. Il Bernheim chiamò questa forma « stomatite ulcerosa »

describbe il quadro clinico di essa e l'aspetto microscopico dei bacilli fusiformi limitandosi a chiamarli « incoltivabili » perchè in nessun terreno nutritizio, né aerobicamente egli era riuscito ad ottenerli in coltura pura. Anch'egli come i precedenti autori volle trovare un nesso etiologico tra bacilli e forma morbosa ed espresse anche l'ipotesi che il bacillo fusiforme fosse specifico per la forma di stomatite da lui descritta.

Più raramente che nelle vie respiratorie superiori venne riscontrata la presenza dei bacilli in parola in altre parti del corpo.

Vincent ed Abel stesso li trovarono nella gangrena d'ospedale per cui tale microrganismo venne ad assumere un'importanza ancor maggiore.

Seitz li trovò su 202 casi, 110 volte e non solo nelle più svariate malattie della bocca e dell'apparato respiratorio, ma anche nelle feci di malati dell'apparecchio digerente.

Interessante è pure un caso descritto dal Silberschmidt nel quale si rinvennero detti microrganismi nel sangue.

Il Rodella lo trovò insieme ad altri aerobi ed anaerobi in un ascesso gassoso e poi in 3 casi di angina di Vincent.

Egli studiando i rapporti che potevano esistere tra b. di Miller e b. fusiforme di Vincent-Bernheim, riuscì a trovare che ambedue potevano coltivarli, insieme ad altri germi per 3-5 generazioni nel brodo col 3% di acido acetico, nell'acqua di condensazione dell'agar e del siero di sangue ecc. e venne alla conclusione che se con rigorosità scientifica non è permesso di affermare l'identità dei microrganismi studiati, tuttavia la costante produzione di gas in brodo comune, la mancanza di esso in brodo zuccherato, e soprattutto il fatto che il b. di Miller e quello coltivato dai 3 casi di angina da Vincent, resistevano perfino al 3% di acido acetico, parlavano assai in favore dell'identità di questi microrganismi.

Il Rodella infine fa rilevare che il Ranko dà pure grande importanza per l'etiologia del noma alle forme anzidette, e che lo stesso, fondandosi soprattutto sugli studi fatti dal Perthes in una epidemia verificatasi in conigli, i quali mostravano nella bocca affezioni simili al noma, ritiene il b. di Vincent-Bernheim appartenga alle streptothrix.

## CAP. XI.

### VIBRIONI.

I vibrioni costituiscono un gruppo vasto di batteri a forma di virgola o parentesi, tra i quali evvi quello del colera e molti vibrioni delle acque, delle feci, del suolo.

#### Vibrione del colera.

##### Caratteri microscopici.

Il vibrione del colera (*cholera vibrio*, *komma bacillus*, *microspira komma*, *b. cholerae*, *b. virgola*) è un germe di solito curvo, con gli estremi che si trovano in un medesimo piano (fig. 214): eccezionalmente presenta anche forme ovali o coccacee, che si formano specialmente nei brodi molto alcalini, nonchè forme diritte, le quali si trovano in quantità maggiore o minore mescolate alle forme curve e che si sviluppano in quelle colture che si ottengono dopo ripetuti passaggi da tubo a tubo, senza mai interealarne nuo in animali.

Può anche presentarsi nel così detto aspetto eteromorfo studiato dal Gamaleia, coltivando i germi in gelatina aggiunta di sali di litio, cioè: in forme enormi,

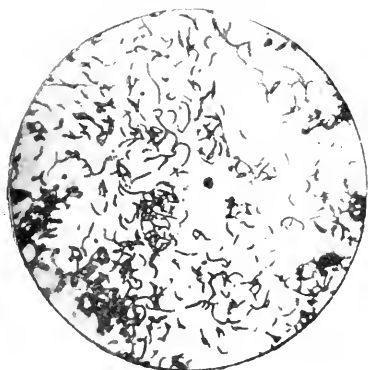


fig. 214.

a spira, a estremi arrotondati, a contenuto omogeneamente colorabile; in forme sferoidali, più o meno grandi, a contorno poco colorabile, a contenuto che ora non si può colorare, ora a punti finissimi, o striato; in forme filamentose molto sottili, diritte e flessuose poco colorabili, addossate agli estremi degli enormi spirilli.

Il v. del cholera si colora con le soluzioni idroalcoliche dei colori di anilina o con quelle mordenzate, diluite al decimo: appaiono allora specialmente colorati punti centrali o polari, che una volta vennero erroneamente interpretati come endospore. Non resiste al metodo di Gram: è dotato di un movimento a cava-turacciolo perchè possiede un unico ciglio (la presenza di un secondo ciglio è invece molto contrastata e la varietà priva di ciglia forse dipende da errori della tecnica). È anaerobio facoltativo.

#### Caratteri culturali.

Ha un optimum di sviluppo a 37°, cessa di svilupparsi a 40°, e sotto i 12°: si sviluppa bene in tutti i substrati, accontentandosi di pochi materiali, per es. di acqua con un po' di *Na Cl*.

In gelatina a piatto (fig. 215) forma colonie piccole, grossolanamente granulose, con un bordo che diventa poi lobato, e con la superficie che pure a poco a poco si va formando di insenature e lobi, i quali conferi-

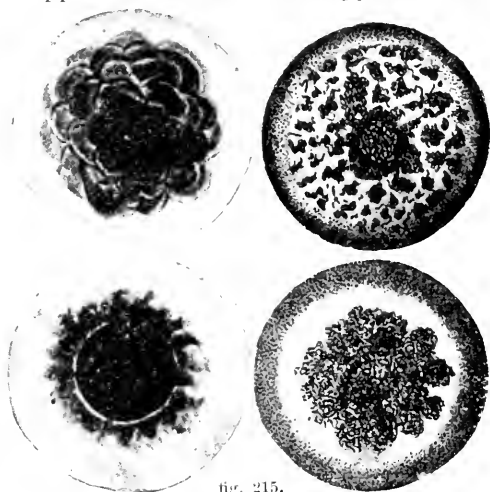


fig. 215.

sono alla colonia, se vista al microscopio, l'aspetto di una margherita.

A volte poi forma colonie le quali, prima che succeda la lobatura, si diffondono nella zona di fluidificazione, perchè si frammentano ed allora appaiono come una serie di zolle: altre colonie hanno invece i bordi irradiantisi nell'alone, ecc.

*In gelatina per infissione*, si forma lungo l'infissione un nastrino senza caratteri speciali, e in superficie una lieve depressione ricoperta da una patina sottilissima, cerulea, in corrispondenza della quale la gelatina si fonde: sotto questo forellino la fluidificazione si estende e quindi si forma come una saccoccia, il cui orifizio è più piccolo del fondo: questa saccoccia si trasforma presto in una coppa alla cui apertura rimane una bolla di gas ( $CO_2$ ) (fig. 216).

*Su agar a becco di flauto* lo sviluppo è simile a quelle del b. coli e del b. del tifo, si forma cioè una patina sottile, a volte molto sporea, bianco sudicia, uniforme, umida.

*In brodo*, produce rapidamente un intorbidamento uniforme con sedimentò scarso: e se il brodo è molto alcalino si forma un velo ceruleo in superficie, che rimonta alquanto nella parete del tubo: se il brodo è molto alcalino si forma un velo accartocciato, rugoso, facilmente frammentabile.

*Su patate* a reazione acida, lasciando la coltura a temperatura ambiente, pare non si sviluppi: a  $37^\circ$  si forma una patina sottile poco visibile: innestato su patate tenute a  $100^\circ$  per  $10'$ - $15'$  e trattate con  $NaCO_3$  al  $5\%$ , si sviluppa bene a temperatura ordinaria ma meglio a  $37^\circ$ , formando una patina sporea, omogenea, bianco sudicia, poi bianco-giallastra (secondo Lehmann e Neumann), che successivamente può tendere al rosso-bruno (?) o al rosso-giallo (?).

*Il siero* dopo 10-12 h viene completamente fluidificato.

#### Caratteri biologici.

Sono stati molto studiati per poterlo differenziare dai colera-simili dell'acqua.

Possiede un energico enzima proteolitico e l'inversivo: quando questo non si osserva, ciò avviene, perchè si formerebbero acidi che paralizzerebbero lo sviluppo del germe: vi si può ovviare aggiungendo ossido di magnesio al brodo e saldando il tubo alla lampada.



fig. 216.

Attacca il lattosio e il glucosio, meno il saccarosio, ed è capace di coagulare il latte, sebbene non costantemente.

Certo le colture in latte, invecchiate, diventano acide e contengono acido lattico prevalentemente sinistrogiro. Coltivato su nova produce gas ( $H^2S$ ): attacca i nitrati riducendoli in nitriti e questi in  $NH^3$  per cui è possibile nelle colture dimostrare l'indolo, aggiungendo qualche goccia di  $H^2SO^4$  concentrato (metodo Salkowsky), anche senza aggiungere previamente al brodo dei nitriti, poichè nel peptone della coltura vi sono sempre dei nitrati.

Inoculato nel peritoneo delle cavie, produce la peritonite colorica siero-emorragica, più di rado siero-purulenta: essa si ottiene inoculando 1-2 cm. di brodo sterile in cui si siano emulsionate 2-3 anse di una patina recente di colera: le cavie muoiono al 2°-3° giorno presentando, alle volte, oltre alla peritonite, l'intestino iperenico, meteorico. Specialmente nell'essudato, nella milza e nel sangue (e più in quella che in questo) si riscontrano i vibrioni. Inoculandolo nel sottocutaneo produce edema gelatinoso, con una zona marginale emorragica: l'essudato è ricco di vibrioni, i quali si possono altresì ritrovare nel sangue, nella milza e negli organi, ma non però costantemente.

Somministrandolo per via gastrica, gli animali lo sopportano bene tutti, tranne lo *spermophilus*, al quale basta 1 cm<sup>3</sup> di brodo in cui si siano stemperate 3 anse di una coltura di 48 h. per determinare dopo 48 h di diarrea e al 6° giorno morte con tutti i sintomi del colera (intestino meteorico, diarrea risiforme, ecc.).

Per aver questo quadro negli altri animali è necessario neutralizzare il succo gastrico con l'introduzione nello stomaco di 5 cm<sup>3</sup> di  $Na^2CO^3$  al 2% e coll'iniezione dell'1.3-1.6% del peso dell'animale, di tintura di oppio o dell'alcool. Dopo 18-36 h, nelle cavie si nota diarrea, e poi morte preceduta da ipotermia.

Secondo alcuni agisce per opera di veleni.

Fra le sue sostanze tossiche è da ricordare la tossialbumina del Brieger che, da quanto dice il Brieger, forse è una diastasi. Petri avrebbe trovato un tossopeptone estraendolo da colture in brodo di 8 giorni sterilizzate a 120°: 1-2 cm<sup>3</sup> sarebbero stati sufficienti per uccidere una cavia del peso di 250 gr. inoculata nel peritoneo: la morte è preceduta da diarrea.

Questo tossopeptone, che si otterrebbe in brodocolture aggiunte di peptone Chapoteau, Gamaleïa crede poter affermare essere un veleno termostabile, accanto al quale devesi porre un veleno termolabile, che cessa di essere efficace a 65°, comportandosi quindi come le tossine: inoculato produrrebbe diarree. Metsch-



nikoff, Roux, Salimbeni lo avrebbero ottenuto da colture fatte in acqua, peptone e *NaCl* filtrate allo Chamberland.

Sanarelli opera così: innesta i vibriani presi dal pus di una cavia in sacchetti di collodion pieni di brodo e li pone nel peritoneo di una cavia: dopo 5-7 giorni estrae questo primo sacchetto e il materiale lo innesta in una cavia sana: rifà un nuovo sacchetto e così via fino al 20° passaggio: il liquido del 20° brodo alla dose di 0,3 cm<sup>3</sup> per 100 gr. di cavia produce edema sottocutaneo, iperemia, ipotermia, e se la dose è maggiore anche diarrea.

### Diagnosi.

**ISOLAMENTO.** — Il vibriane del colera si ricerca nelle feci e nell'acqua: eccezionalmente in altri materiali e in altri luoghi.

#### 1° Ricerca nelle feci.

Si prendono i fiocchi di muco delle feci possibilmente fresche (perchè nelle feci emesse il vibriane muore rapidamente) e con essi si fanno preparati microscopici e colture.

*I preparati* si colorano con fuxina diluita e debbono presentare dei batteri curvi disposti nella stessa direzione come uno « sciaume di pesci in una corrente d'acqua ». Non è raro trovare colorati, fra i vari germi, dei filamenti sottilissimi costituenti una specie di reticolo: sono queste le ciglia dei vibriani. Quando si trova tale reperto la diagnosi di colera è indubbia. Però è sempre bene aspettare il responso colturale, prima di pronunziarsi, quando si tratti di un caso non epidemico.

*Le colture* si potrebbero fare seminando piatte in agar o in gelatina, le une per strisciamento le altre per diluizione: ma, è meglio prima servirsi dei procedimenti che favoriscono la moltiplicazione dei vibriani in modo, che se anche nei fiocchetti di muco essi sono pochi, si possano ottenere delle colture pure o quasi pure del vibriane: tali insomma da permettere la diagnosi.

A tal uopo si possono fare semine col metodo di Zabolotny in piatte in cui si trovi dell'albuminato alcalino solidificato e agarizzato col metodo di Rosenthal o Tarchanoff e Kolesurkoff o con quello da me indicato (V. pag. 255).

Però si sbatte bene il fiocchetto in acqua sterile ed eventualmente si diluisce questa acqua altre due volte. Quindi col liquido della terza diluizione si bagna la superficie della piatta, la quale si tiene obliquamente in modo che si raccolga il liquido nella parte bassa della piatta.

In questa stessa posizione si pongono nella stufa, dove si tengono 10-12-20 ore. Già però dopo 5-6 ore compaiono le colonie, che poi dopo 9-10 ore sono evidenti. Da esse si fanno i trapianti in brodo, gelatina, ecc., per le ulteriori ricerche diagnostiche.

Più comunemente però si adoperano i procedimenti di Schottelius e di Dunham-Koch.

Seguendo quello di Schottelius, si prendono 100-200 emc. di feci, si mescolano con 250-500 emc. di brodo e si lasciano in vasi aperti a 37° per 10-12 h. I vibrioni, avidissimi di ossigeno, vengono alla superficie del liquido, dove si moltiplicano così rigogliosamente, da poterli facilmente isolare e diagnosticare.

Seguendo quello di Dunham-Koch, che del resto è il più commendevole, si innesta il fiocchetto di muco in acqua peptonizzata salata (V. pag. 255) (è bene fare sei prove diverse) e si pone in termostato 37°. Dopo 6-8 ore o 10-12, a seconda dei casi, si fa una goccia pendente dal materiale che si trova sul menisco del liquido (specie se si è formato un velo) e se si vedono forme dotate della mobilità di vibrioni, non uniformemente colorabili, curve, il sospetto di trovarsi dinanzi al v. del colera, acquista grande valore.

Con lo stesso materiale si possono fare altri passaggi in acqua peptonizzata salata per averlo più isolato e contemporaneamente delle diluizioni in gelatina, e strisciamenti in agar a piatto per mezzo di piccoli batuffoletti di ovatta sterili secondo il procedimento di Neisser.

Perciò se ne sporca un primo con il materiale e lo si striscia sull'agar; si passa un secondo sul primo strisciamento e se ne fa un altro accanto, si passa un terzo sul secondo strisciamento e se ne fa un altro accanto al secondo, ecc.: quindi si pone la piastra rovesciata in termostato.

Così mentre si sviluppano le colonie in gelatina, nelle piatte in agar si sviluppano queste altre che possono essere isolate e passate in agar a becco di flauto, in gelatina per infusione e in brodo in modo da permettere di rilevare i caratteri culturali che conducono alla diagnosi del v. del colera.

Una delle brodoculture seminate col fiocchetto intanto può servire per la ricerca dell'indolo; ma per questa reazione è sempre meglio ricorrere alle colture pure.

In qualche caso i vibrioni possono essere scarsissimi e non aversi pelli-cola nell'acqua peptonizzata. Si consiglia allora (Abel e Clausen), di far passaggi dopo 24 h dal liquido innestato con molta quantità di feci (1 p. di feci su 10 p. di liquido), in altro substrato alcalino e magari di ripetere una terza volta il passaggio. Si viene così a facilitare la separazione degli altri germi dal vibrione colerigeno e a farlo rigogliosamente sviluppare.

Il brodo di Dunham-Koch serve meglio dell'agar-peptone-sale di Metschnikoff, che si usa nella stessa maniera: è per questo che credo inutile di parlarne, tanto più che la fattura del substrato è meno alla mano.

### 2° Ricerca nell'acqua.

Per trovare i vibrioni colerigeni nell'acqua si approfitta della proprietà che hanno di formare un velo nei terreni liquidi più o meno ricchi di peptone e di sale.

Si può tener pronta dell'acqua peptonizzata, alcalinizzata e aggiunta di un po' di gelatina come fa il Metschnikoff, ma è più semplice tener pronta una soluzione di peptone al 10 % e di cloruro sodico al 5 % sterilizzata e di aggiungerne 10 emc. a 90 emc. dell'acqua in cui si cercano i vibrioni (secondo Fliigge).

Si pone il materiale in termostato e lo si tratta come se fosse il brodo di Dunham-Koch innestato con fiocchetti di muco sospetti di contenere i vibrioni del colera.

### 3° Ricerca nel suolo e in altri materiali.

Non accade mai di dover cercare il vibrione colerigeno al di fuori delle feci e dell'acqua: ad ogni modo ove si presentasse il caso di doverlo ricer-

care altrove, si considera il materiale come se si trattasse di fiocchetti di muco. Noterò soltanto, che non essendo il procedimento di ricerca descritto, assolutamente specifico per il vibrione colerigeno, si possono sviluppare altri germi come i protei e germi affini, quali il *b. liquefaciens*, il *putidum album*, il *liquefaciens* nel termine di 12-15 h. L'intorbilamento è però sempre molto maggiore, la pellicola più spessa, l'odore della coltura è quello della putrefazione.

Sono questi i germi che si isolano anche facilmente con questo procedimento dalle acque, quando si fa la ricerca dei vibrioni.

IDENTIFICAZIONE. — Quando si sia isolato un vibrione coi metodi ora indicati, perchè si possa con certezza ritenersi il colerigeno, occorre tener presente:

- 1° la sua forma a virgola;
- 2° la mobilità a succhiello;
- 3° la colorabilità non omogenea;
- 4° la forma della colonia a margherita in gelatina a piatto;
- 5° l'infissione con fluidificazione a coppa.

Ai quali dati si può aggiungere quello dell'azione patogena verso le carie.

Ad ogni modo la certezza di avere che fare con un tipico vibrione colerigeno non si ha se non quando si sottometta il germe isolato alla prova di Pfeiffer (V. pag. 319-320).

DIAGNOSI DIFFERENZIALE. — 1° tra i vibrioni colerigeni di varia provenienza.

Non v'ha dubbio che, per procedere a diagnosi differenziali, non solo è necessario conoscere i caratteri dei vibrioni colerasimili, ma anche quelli di quei vibrioni colerigeni che hanno modificato alcuni dei caratteri o morfologici o colturali o biologici e che alcuni autori ritengono varietà del vero vibrione colerigeno e altri razze diverse dello stesso.

Il *v. cholerae* modifica i suoi caratteri biologici secondo il substrato ove viene coltivato, secondo il numero dei passaggi da tubo a tubo, e secondo le razze umane che colpisce. È così che i vibrioni isolati dalle epidemie europee differiscono da quelli delle epidemie africane e indiane. Ciò si può rilevare studiando la forma dei vibrioni, i caratteri delle loro colonie, la rapidità con cui fondono la gelatina, il modo con cui si coltivano nel latte, nel brodo peptonizzato, e infine la loro azione patogena.

IN RAPPORTO ALLA FORMA si può dire che alcuni vibrioni sono sempre grossi, curvi, d'aspetto tozzo in confronto al *v. cholerae* tipico di Koch; ciò si verifica nel *v. cholerae della Cocincina, di Amburgo, di Parigi, di Fran-*

cia (1892). Altri invece sono più sottili, curvi, filamentosi e diritti, cioè si verifica nel *v. di Courbeleroi*, di *Massana*, di *Ghinda*.

IN RAPPORTO ALLA FLUIDIFICAZIONE, alcuni vibriani fluidificano la gelatina più rapidamente del *v. Koch* e viceversa: il *v. di Bordoni-Ufredduzzi* e *Abba* divenne fluidificante come il *v. Koch*, solo dopo 9 mesi di passaggi da tubo a tubo; il *v. di Amburgo* lo divenne dopo ripetuti passaggi in latte sterile; così pure il *v. Romanus di Celli-Santori* fluidificava poco, inoltre si distingue dal *v. di Koch* perchè in primo tempo non si sviluppò a 37°, non produsse l'indolo, nè pellicola, nè coagulò il latte; invece il *v. Fischeri* o *v. elcogenes* è molto fondente, del resto esso si distingue bene perchè coagula il latte, e sulla crema del latte produce una patina giallognola: di più non si sviluppa sulle patate.

SULLE PATATE ove se acide, il *v. Koch*, si sviluppa solo a 37°; altri non si sviluppano, come il vibriane di *Koch* isolato nell'Oriente. Altri invece, come il *v. Parigi*, in primo tempo non si svilupparono e dopo vi produssero anche una patina colorata in rosso mattone.

NEL LATTE i vari vibriani si comportano poi variamente: il *v. Romanus* solo dopo 8 mesi lo coagulò: lo coagularono subito invece il *v. di Cocincina*, di *Parigi*, di *Massana*, di *Ghinda*: questi ultimi non lo coagulano o lo fanno, tardivamente, quando si aggiunga al latte del saccarosio.

NEI BRODI SACCAROSATI al 5%, si è visto che in genere i vibriani producono acidi: però questa acidità varia; è debole nei due vibriani africani, maggiore negli altri.

Spesso, oltre la acidificazione si nota anche la produzione di una pellicola: i *v. di Parigi* e della *Cocincina* formano una pellicola scarsa e solo dopo 2-3 giorni, più rapidamente la producono il *v. di Ghinda* (dopo 24 h), il *v. Massana* (dopo 48 h) i quali spesso la formano rugosa.

IN QUANTO ALL'AZIONE PATOGENA il *v. Koch* è tipicamente patogeno per le cavie, nelle quali produce la peritonite colerica, invece quello Romano non la produsse nella cavia neppure dopo 8 mesi, eppure era patogeno per l'uomo. Il *v. di Lisbona* non ebbe azione sulle cavie che dopo molti passaggi (*Chautemesse*); il *v. bipolaris* solo dopo 15 passaggi: però non produce indolo e presenta nel corpo uno spazio chiaro grande che lo fa facilmente riconoscere.

Accanto a queste varietà, che del resto è molto discentibile siano tutte diremo così fisiologiche, ve ne sono altre ascritte ancora al gruppo del *v. colerico Koch* nei soli caratteri morfologici, ma che però non reagiscono alla prova del Pfeiffer: sono questi: il *v. di Burger* (*Esingel*, *Fränkel*); il *v. di Danzica di Pfeiffer* e il *v. Berolinensis* di *Neisser*.

Però se par certo che i *v. Burger* e *Danzica* sono vibriani colerici veri, così non è certo che lo sia il *v. Berolinensis*: infatti questo forma colonie finamente granulose, che tendono a dividersi in una serie di lobuli, e sono poco fondenti: inoltre possiede una emolisina molto attiva, ed è molto più patogeno per le cavie del *v. Koch*: però esso può venire agglutinato dal siero di animali immunizzati verso il *v. colerico Koch*.

2° tra il *v. di Koch* e i vibriani colerasimili.

I vibriani colerasimili più importanti sono il *v. Finkler* e *Prior* (*v. proteus*), il *v. Denck* e il *v. Metschnikovii*, cui si aggiungono i vibriani colerasimili delle acque.

IL *v. FINKLER PRIOR* ha forma curva con centro rigonfiato, ed estremità affilate, quindi ha l'aspetto di una mezzaluna turca: in genere è più grosso del *v. Koch*, ed è di questo meno mobile, forse per la presenza di un ciglio molto corto. Forma colonie finemente granulose a margine liscio: fluidifica molto presto, a coppa, a calza, e senza bolla. In brodo non produce pellicola, e a 37° su patate acide non si sviluppa a meno che l'acidità non sia ridotta al minimo; però si sviluppa sempre a temperatura ordinaria. Nei terreni all'albumina d'uovo produce fluidificazione dopo 48 h: anche il siero viene fluidificato e si formano in esso zolle giallastre molto granulose che costano di ammassi di vibrioni. Coagula il latte rapidamente e poi ridiscioglie il coagulo. Nei terreni idrocarbonati produce pochi acidi, come pure su albume d'uovo produce poco  $H^2S$ . Tanto nei terreni ordinari che in quelli zuccherati non pare produca gas: nei brodi peptonizzati e salati produce poco indolo (che in ogni modo non si riesce a rivelare col metodo Salkowsky): produce pochi nitriti; è molto patogeno per le cavie; è poco emolitico e non reagisce alla prova di Pfeiffer.

Di *v. Finkler e Prior* ne sono stati descritti vari: però le loro descrizioni non sono tutte complete: ad ogni modo il *v. Miller* e il *v. Pestana* pare siano identici: quest'ultimo però non produce mai indolo, né è patogeno.

Il *v. Metschnikowii* o *v. arvicola* tende alla forma spirillare specialmente quando si esamina in colture di 1-5 giorni.

Su patate produce una stria giallo-bruna: coagula il latte solo dopo 6-8 giorni; il coagulo è compatto e non viene ridisciolto; pare produca poco indolo; è denitrificante e nel latte produce acido lattico levogiro; come il *v. Berolinensis* è emolitico per il sangue umano e di cavia.

Il *v. Dencke* o *del formaggio* ha poca importanza e non si può identificare con altri vibrioni, specie perchè la sua descrizione è incompleta.

Va anche inteso col nome di *v. tyrogens*. Per le sue proprietà si potrebbe porre fra il *v. proteus* e il *v. Koch*: fluidifica più del *v. Koch* ma meno del *v. proteus*, e produce la coppa tipica più presto del *v. Koch*, con una bolla grossa.

Nel brodo forma dopo 2-3 giorni una pellicola che non è mai completa. Secondo alcuni colorirebbe in giallo la gelatina: certo nel latte forma un pigmento giallo, secondo alcuni solo in superficie, secondo altri (Sclavo) a tutto spessore. Indolo ne forma punto o poco, e nel latte produce acido lattico destrigiro: non è patogeno.

Questi tre vibrioni sono stati paragonati al *v. Koch*, dal quale si sogliono differenziare per i seguenti caratteri biologici:

Nel brodo zuccherato il *v. Koch* dà forme ripiegate e sottili, il *v. Metschnikowii* sempre forme curve a parentesi: il *v. Finkler* si accorcia e dà forme concave solo dopo 18-20 giorni; il *v. Dencke* dà lunghi filamenti dopo 48 h; il *v. Koch*, l'*arvicola*, il *proteus* intorbidano notevolmente il brodo, il *v. Dencke* no.

Il *v. Koch* inverte rapidamente dopo 2 giorni il saccarosio come il *v. arvicola*; il *v. proteus* non lo inverte anche dopo 10-12 giorni; il *v. Koch* non produce pellicola; il *v. Finkler* e l'*arvicola* la producono, il *v. Dencke* la produce, ma incompleta.

Il *v. Koch* produce scarso indolo, il *v. arvicida* tracce incostanti, il *v. proteus* e il *v. Deneke* mai. Il *v. Koch* e il *v. Deneke* non sono emolitici, lo sono però il *v. proteus* e il *v. Metschnikoff*.

Il *v. Koch* non coagula il latte, il *v. arvicida*, dopo 6-8 giorni, lo fa, il *v. Finkler* lo coagula e ridiscioglie il coagulo, il *v. Deneke* lo pigmenta lasciando la reazione anfotera.

Nelle patate acide si sviluppano solo a 37° il *v. Koch* e l'*arvicida*; il *v. Finkler* tanto a 37° che a temperatura ordinaria; il *v. Deneke* solo a temperatura ordinaria. Lo sviluppo su patate alcaline avviene per tutti ad ambedue le temperature.

Vi sono infine vibrioni provvisti di più ciglia, ad es. il *v. Zia-Effendi*, il quale non fluidifica o poco: su patate produce una patina bruna, non coagula il latte, non produce indolo non è patogeno.

I vibrioni di Dublino e di Varsavia, che sono simili al *v. arvicida* e al *v. proteus* resistono al Gram.

I vibrioni colerasimili dell'acqua, i quali hanno punti di somiglianza col *v. cholerae*, e costituiscono il vero gruppo dei *v. colerasimili*, sono quelli che fluidificano la gelatina, e che non sono fosforescenti.

I colerasimili fluidificanti sono numerosi: il Sanarelli ne descrisse 32, il Kutscher ne trovò 19 e lo Strong dice che su 10 esami di acque se ne trovano almeno 5 con reperto positivo di *v. colerasimili*, ecc.

Scartando dal gruppo dei *v. colerasimili* quei vibrioni, che per i loro ca. atteri morfologici, per essere non fluidificanti o fosforescenti, nettamente si distinguono dal *v. cholerae*, i più importanti colerasimili sono i vibrioni: *Danubicus*, di *Dunbar*, l'*aquatilis*, quello di *Bouhoff I*, l'*Elba I*, l'*Elba II*, il *Saint-Cloud*, il *Point du Jour*, il *Gennecilliers*, il *Versailles*.

Si tratta di germi, che presentano in genere alcuni caratteri morfologici ed in maggioranza i biologici identici a quelli del *v. cholerae*, ma se ne differenziano o per le colonie diverse, o per le pellicole in brodo, o per la produzione d'indolo o per il potere patogeno sulle cavie, e tutti poi perchè pare reagiscano negativamente alla prova di Pfeiffer.

Il *v. Danubicus* è morfologicamente simile al *v. cholerae*, ma se ne differenzia perchè fluidifica intensamente la gelatina come il *v. proteus*: produce costantemente indolo, e sempre coagula il latte. In piastre di gelatina dà colonie alquanto diverse da quelle del *v. cholerae*, perchè esse sono molto espanse, con margini e prominenze ondulate. Sulla patata si sviluppa difficilmente, e quando si sviluppa da una patina bruciccia. È patogeno per le cavie. Fu isolato dall'acqua del Danubio di Heider.

Il *v. Dunbar* si assomiglia molto al *v. Koch* tanto che dai caratteri morfologici e colturali non ne pare differenziabile. Sembra però che non sia patogeno.

Il *v. acquatilis*, trovato dal Günther, è stato anche descritto sotto il nome di *v. Weibel* (che l'avrebbe trovato in acqua di pozzo) e di *v. Vogler* (che l'avrebbe trovato in individuo sano in tempo di colera: si differenzia dal *v. cholerae*, perchè si sviluppa pochissimo a 37° e non si sviluppa allatto su patata sia a 37° che a temperatura ordinaria. Produce molto idrogeno solforato. Non pare formi dell'indolo. In piastre di gelatina le colonie si distinguono da quelle del *v. cholerae* per essere finamente granulose, a margini lisci o appena ondulati (mai dentellati, grannolosi).

Il *v. Bonhoff I* è simile al *v. cholerae*, di cui ricorda la morfologia. È patogeno come il *v. cholerae*. Se ne differenzia perchè in brodo dà una pellicola molto spessa, e che risale anche sulle pareti del tubo.

Dei *v. dell'Elba*, il n. 1 si differenzia morfologicamente dal *v. cholerae*, perchè è più grosso: inoltre non è patogeno per inoculazione sottocutanea e poco patogeno per inoculazione endoperitoneale: il n. 2 presenta caratteri biologici e culturali identici a quelli del *v. cholerae*, ma è più piccolo: è molto patogeno.

Dei *vibrioni di Sanarelli* importanti sono il Saint-Cloud, il Point du Jour, il Gennevilliers ed il Versailles, tutti patogeni per le cavie.

Il *Saint-Cloud* ed il *Point du Jour* formano su patate una patina spessa brunastra: il *Point du Jour* è molto sottile, più sottile del *v. cholerae*, e tende a formare delle spirali: è patogeno bene per le cavie solo per la via endoperitoneale, mentre il *Saint-Cloud* è patogeno per le cavie tanto per via sottocutanea che per via endoperitoneale.

Il *Gennevilliers* ed il *Versailles* presentano caratteri culturali e biologici identici a quelli del *v. Koch*, però se ne differenziano perchè non sono costantemente patogeni, anche per inoculazione endoperitoneale.

Il *Gennevilliers* si distingue dal *Versailles*, perchè il primo dà su patata una patina sottile virgata, estesa: il secondo invece dà una patina bianca, poco estesa.

Altri vibrioni non si possono confondere con quelli del colera: sono i non fluidificanti, i fosforescenti, alcuni dello sputo, della bocca e del suolo.

#### 1° vibrioni non fluidificanti.

Fra essi il più importante è il *v. di Forge*, isolato dall'acqua potabile di Operto, il quale non coagula il latte, non dà pellicola in brodo, si sviluppa male su patate: non è patogeno. Nello stesso gruppo ascriviamo ancora vari vibrioni del Sanarelli e del Kutscher ed il *v. Bonhoff II*, isolato dalle acque di Pomerania e capace di produrre molto indolo.

La maggior parte di questi vibrioni sono patogeni per le cavie.

#### 2° vibrioni fosforescenti o fotobatteri. Citerò i seguenti:

v. albense o v. fosforescente dell'Elba di Kutscher:

v. indico o b. fosforescente di Fischer, o fotobatterio indico di Eycerinek, o bacillo luminoso dell'India occidentale, o b. ciano-fosforescente dei mari australi (causa della fosforescenza del mare):

v. luminoso:

v. baltico:

v. di Fischer.

Sono facili a differenziare per la loro fosforescenza.

#### 3° vibrioni dello sputo.

Nello sputo finalmente si trova il v. di Brix: non produce indolo: è fortemente fluidificante: non è patogeno.

#### 4° vibrioni del naso.

Nel naso e nella bocca sono stati descritti come vibrioni il v. nasale e il v. linguale i quali non sono che delle streptothrix (Bajardi).

Vibrioni si sono trovati anche nel pus, specie in casi di metriti cervicali, nelle feci (anche dal Sanarelli).

#### 5° vibrioni del suolo.

Nel suolo di Berlino si trovò il *v. terrigeno* (Günther): non fluidifica la gelatina, non coagula il latte, non dà gas. Su patate dà una patina bianco-gialliccia. In piastre di gelatina dà colonie ricciate e brunicie, se vecchie. Non è patogeno per gli animali e sembra che sia identico al *v. saprofito*  $\alpha$  di Weibel.

## CAP. XII.

## SPIRILLI E SPIROCHETI.

## Spirilli.

Sono germi che hanno forma di spira o di cavaturaccioli, per lo più con flagelli polari, spesso bipolari: si chiamano così però finchè il numero delle spire è nè inferiore a due, nè superiore a quattro o cinque (in quest'ultimo caso si tratterebbe piuttosto di *spirocheti*).

I noti sono pochi e questi pochi illustrati anche da un numero scarso di autori.

I più importanti per i loro caratteri colturali sono i seguenti:

*Spirillum concentricum*: spirilli corti, incurvati, colorabili col metodo di Gram: in piastre di gelatina si formano colonie delicate trasparenti: per iniezione, la gelatina è fluidificata a fiasco: il brodo è intorbidato. Non si ha sviluppo di gas, di  $H_2S$ , d'indolo: non coagula il latte.

*Spirillum rubrum*: sono sottili filamenti piegati a cavaturaccioli colorabili col metodo di Gram. In piastre di gelatina dà colonie trasparenti, grigio-giallastre, che più tardi presentano degli anelli concentrici attorno ad un punto centrale: l'iniezione in gelatina ha forma fusiforme o cilindrica e si colora in giallo-rossiccio. Non produce gas, nè  $H_2S$ , nè tracce di indolo. Non fluidifica la gelatina.

*Spirillum rugula*: in piastra di gelatina dà colonie simili a quelle del carbonchio. Non fluidifica la gelatina.

*Spirillum serpens*: ha 14 flagelli. Nell'iniezione in gelatina si ha fluidificazione con bolla di gas: le sue colonie sono come quelle del b. coli.

*Spirillum tenue*: è molto sottile: in piastra di gelatina dà colonie sottili, espanse, a contorni netti, finamente granulosi.

*Spirillum undulata*: di cui si conoscono due varietà il *minus* che ha uno sviluppo simile a quello del b. coli: e il *minus* che ha uno sviluppo meno evidente ed è un terzo più piccolo. Le loro colonie si affondano alquanto nel terreno di nutrizione. A lungo andare nelle colture divengono rettilinee.

*Spirillum volutans*: è spesso 2-3  $\mu$ : l'altezza di un giro è di 6,6  $\mu$ : per lo più forma  $2\frac{1}{2}$ -3  $\frac{1}{2}$  giri. Le sue colonie sono come quelle del b. coli.

Fra gli spirilli merita di essere ricordato il *tenarrinum*, che fu trovato molte volte nell'intestino di colerosi e nelle feci di sospetti di colera: è uno spirillo senza flagelli. Le piastre in gelatina presentano colonie caratteristiche con centro composto, circondato da una zona più sottile, avente alla periferia una corona di raggi anastomizzati: intorbida il brodo: fluidifica lentamente la gelatina. Kowalski lo ha battezzato col nome di *sp. haebaizae*.

## Spirocheti.

Sono germi lunghi, ravvolti a spirale: le forme parassitiche non sono coltivabili o coltivabili solo nell'intestino di certi animali (sanguisughe): essi si presentano con la caratteristica forma di cavaturaccioli a lunghe spire.



Il più importante fra essi è lo *spirochaete Obermaieri*, causa della febbre ricorrente. Sono filamenti lunghi  $1 \frac{1}{2}$  - 26 volte un corpuscolo rosso (lungli sino a  $150 \mu$ ) con 10-12 curvature.

Altri spirocheti sono :

lo *spirochaete anserum* (*sp. anserino*) trovato nel sangue di oche del Caucaso, affette da una malattia epizootica ;

lo *sp. plicatilis* dell'acqua stagnante ;

lo *sp. della patina dei denti*, ecc.

## CAP. XIII.

### C O C C A C E E .

Comprendono le forme batteriche sferiche (od ovoidi) che si riuniscono a gruppi (*stafilococchi*), a due (*diplococchi*), a quattro (*tetrageni*), a catena (*streptococchi*).

#### I. — Stafilococchi.

Gli stafilococchi sono dei cocchi che invece di presentare una disposizione in ordine sparso come in genere i così detti micrococchi, si riuniscono in ammassi: essi comprendono i micrococchi, l'albo, l'aureo, il citreo, il roseo (?).

#### STAFILOCOCCO PIOGENO ALBO.

È un germe rotondo che si unisce in ammassi (fig. 217), immobile, resistente al Gram e che si sviluppa bene su tutti i terreni a  $13^{\circ}$ - $14^{\circ}$  con l'optimum a  $37^{\circ}$ .

*In gelatina a piatto* forma colonie granulose rotonde bianche, che man mano si infossano, presentando un alone di fluidificazione grande e limpido.

*In gelatina per infissione* forma una patina in superficie biancastra, spessa, a bordi lievemente ondulati, umida, che man mano si infossa sul substrato.

Lungo l'infissione la gelatina viene fluidificata dapprima a forma a calza e poi a cilindro.

*Su agar a becco di flauto* forma una patina biancastra, non molto diffusa, a bordi un po' ondulati, umida e poltacea.

*Il brodo* viene intorbidato e vi si forma un sedimento granuloso: raramente alla superficie si forma un velo.

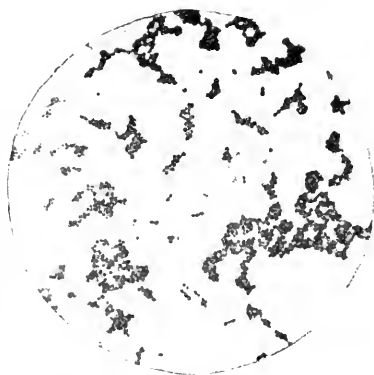


fig. 217.

Su patate si sviluppa solo lungo la linea di innesto con una patina identica a quella che si sviluppa su agar, ma meno umida.

Produce raramente gas, non pare che produca indolo: alcune forme non coagulano il latte, altre lo coagulano e ridisciolgono il coagulo.

Lo stafilococco albo è patogeno per gli animali, i quali vengono uccisi per setticemia con lesioni locali (ascessi e necrosi). In che maniera agisca lo staf. albo è ancora ignoto: si può ammettere agisca come l'aureo.

### Diagnosi.

IDENTIFICAZIONE. — La ricerca degli stafilococchi è molto facile.

Dato un materiale che contenga dei cocci riuniti a grappolo, che resistono al metodo del Gram (specie se si tratta di pus, di liquidi sierosi, di sangue, ecc.), in genere senz'altro si ritiene si tratti di stafilococchi.

Per la diagnosi della specie occorre però ricorrere alle colture che sono sufficientemente caratteristiche, tenendo presente il pigmento delle singole varietà.

Per esser certi che si tratti di germi piogeni, si può poi ricorrere alla prova negli animali.

A tal uopo piuttosto che procedere all'inoculazione sottocutanea o endoperitoneale per ottenere ascessi e setticemie, si può radere a sangue la cute dell'addome di conigli e poi versare su essa una emulsione in brodo di una patina dello stafilococco su agar, coprire la parte con avatta sterile e attendere qualche giorno. Quindi si sfaccia l'animale e, se si è formato del pus nel quale si trovino gli stafilococchi, la diagnosi è fatta.

In ogni caso si possono inoculare conigli con un stafilococco tipico e poi, prelevando il siero, saggiare il potere agglutinante dello stesso sul supposto stafilococco.

Secondo Kolb si agglutinerebbero solo gli stafilococchi piogeni, non altri germi simili dell'aria, dell'acqua.

Del resto si possono anche ricercare nelle brodocolture le emolisine e leucolisine (V. pag. 296 e 301): secondo gli studi del Neisser e del Wechsberg solo le forme piogene possederebbero questi veleni.

DIAGNOSI DIFFERENZIALE. — Lo *stafilococco piogeno albo* va differenziato da altri germi che o sono piogeni o possono divenirlo, i quali trovansi nell'aria, nell'acqua, nel suolo; cioè:

1° dal *mier. candidans*.

È rotondo, immobile, resistente al Gram.

In *gelatina a piatto* dà colonie bianco-porcellanee, granulose, puntiformi, che man mano si ingrandiscono e dopo otto giorni raggiungono il diametro di 1-2 mm.; sono piuttosto piane, espanse, a bordi un po' ondulati.

In gelatina per infissione si sviluppa un nastrino filiforme bianco, e in superficie una patina bianco-porcellanea a bordi ondulati e piani.

Sull'agar e sulle patate forma una patina identica.

Il brodo secondo alcuni quasi non è intorbidato, secondo altri lo è molto; vi forma sempre un sedimento granuloso, cremoso.

Alle volte produce acido lattico nel latte, senza però coagularlo; produce H<sup>2</sup>S. Non è patogeno.

Nell'ambiente evvi un germe morfologicamente identico al *mier. caudicans*, però, flogogeno per gli animali: è lo *st. pyog. cereus albus* del Passet, che non fluidifica la gelatina.

Dalle ricerche fatte in questo Istituto pare si tratti dello stesso *mier. caudicans* divenuto piogeno.

Lo *staf. albo* infine non va confuso con lo *st. p. aureo* quando questo ha perduto la proprietà di dare pigmento (coltivato a lungo in anaerobiosi, ricavato da raccolte purulente vecchie, ecc.).

La diagnosi si fa dopo passaggi nei vari terreni di coltura, tenendoli alla luce diffusa per un tempo più o meno lungo.

#### STAF. PIOGENO AUREO.

È un germe che ha tutti i caratteri dello staf. albo; ma se ne differenzia perchè produce un pigmento giallo-oro. Esplica la sua azione patogena uccidendo gli animali per setticemia con predominanza maggiore o minore di fatti locali.

Il suo meccanismo d'azione fu oggetto di molti studi. Alcuni crederono che la morte dell'animale fosse dovuta alla produzione di una tossina, ma poi non si è riusciti a dimostrarla: infatti i filtrati di brodocolture allo Chamberland sono quasi sforniti di azione patogena, occorrendo inocularne circa 250 cm<sup>3</sup> in cavie per avere qualche reazione locale. Contiene invece una proteina (nucleina?), che inocolata nell'occhio produce un ascesso privo di germi viventi. Certamente produce veleni secondari, cioè emolisine e lencolisine. Le prime sono state studiate dal Neisser e dal Wechsberg, e dal Bajardi: l'azione emolitica, che si verifica solo nella varietà patogena, si esplica sui corpuscoli rossi del sangue di uomo, di cavia e di coniglio.

La costituzione della emolisina è analoga a quella delle tossine, onde è giustificato il nome di emostafilotossina datogli da Neisser e Wechsberg.

Le leucocidine sono state studiate dal Denys e dal van de Velde e poi dagli stessi Neisser e Wechsberg che hanno trovato in esse pure la costituzione delle tossine.

Tutti gli stafilococchi emolitici sarebbero anche leucocidinici.

La ricerca dello st. p. aureo e la sua identificazione si fanno seguendo gli stessi criteri coi quali si fanno quelle dell'albo.

Lo stafilococco piogeno aureo però va differenziato da alcune forme che si trovano in affezioni speciali: nel *penfigo dei neonati*, nel *chiodo di Biskra*, nelle *congiuntiviti*, nel *vaiuolo* e nel *vaccino*.

Quest'ultimo è stato scoperto dal Sanfelice, che lo ha isolato dalle pustole e dalla milza di vaiolosi.

È un germe importante per la sua azione verso gli animali. Nei cani, inoculato sulla cute, produce pustole simili alle vaiolose: sulla cornea produce l'opacamento grigio caratteristico che dà il vaccino normale: nelle sezioni si ritrovano i corpuscoli del Guarnieri: infine, immunizza i cani verso il vaccino e il vaiuolo.

Questo stafilococco è identico a quello del vaccino ordinario, il quale secondo l'A. però sarebbe molto attenuato e non più coltivabile.

Infine va notato che lo stafilococco aureo nelle colture anaerobiche perde facilmente il pigmento, e in tali condizioni non si differenzia dallo stafilococco albo (V. pag. 451).

#### STAF. PIOGENO CITREO

È un germe identico all'aureo; però fluidifica meno presto e produce un pigmento giallo-limone. È patogeno. Alcune volte si può ritrovare nell'ambiente e non essere fluidificante. In tal caso si parla dello st. *cereoflavo*: alle volte non è patogeno e così si avvicina al *m. sulfureus* di Zimmermann che si riporta al tipo dei germi che formano colonie giallo-limone, o verdastre, non fluidificanti.

Lo st. citreo si deve poi differenziare dai vari cocchi a pigmento giallo, che fanno capo al *m. flavus*, il quale, così come è descritto, forse non esiste, e al *m. luteus* (Lehmann e Neumann), che è fluidificante, da colonie rotonde, granulose, che dopo qualche giorno si diffondono e si disfanno. Sull'agar forma una patina molto spessa, rilevata, lucida, quasi cremosa. Lascia limpido il brodo e vi produce un deposito fioccoso e perfino mucoso.

#### STAFILOCOCCO ROSEO.

Lo st. roseo di Tafel, è un germe cui si rammodano vari cocchi a pigmento rosa, rosso, rosso-arancio. Dà colonie irregolari, lucenti, fluidifica tardi e a cilindro: produce una patina rosa sull'agar: non intorbida il brodo.

I cocchi a pigmento rosa comprendono:

forme a pigmento roseo tipico (*m. agilis*);

forme rotonde mobili, che perdono presto la mobilità, a pigmento rosso aranciato o roseofulvo (*m. tetragenus ruber* (?) che si trova negli sputi, p. es.).

A questo gruppo si rimisce (secondo Lehmann e Neumann) anche la *sarcina rosea* costituita di cocchi ora piccoli ora grandi, disposti ora a 4, ora ad ammassi cubici regolari.

Altri cocchi come il *m. cerasinus*, che dà un pigmento rosso-ciliegia, non si possono confondere coi precedenti per il loro pigmento.

## II. — Diplococchi.

Comprende quei cocchi che hanno la tendenza a disporsi a due a due; essi, a loro volta, si possono suddividere in due gruppi:

1° Cocchi sempre accoppiati, che hanno la tendenza a penetrare nell'interno delle cellule degli organismi viventi.

2° Cocchi che indipendentemente dalla proprietà di vivere in organismi viventi, si dispongono anche a piccole catene di coppie in modo da ricordare gli streptococchi.

### GONOCOCCO.

Il gonococco fu scoperto nel 1872 dall' Hallier che lo chiamò *micrococcus gonorrhoeae* e studiato nel 1879 dal Neisser che lo chiamò *diplococcus gonorrhoeae*. Oggi si suole chiamare *gonococcus neisserii*: solo alcuni, e specialmente i botanici, preferiscono chiamarlo *merismopedia gonorrhoeae*.

### Caratteri morfologici.

Si tratta di cocchi disposti a 2, appiattiti nel punto in cui i due cocchi sono in contatto, ciascuno presentando una forma a semiluna, così che la coppia ricorda un chiodo di caffè o anche un doppio fagiolo.

Nell'organismo vivente questi germi si trovano nell'interno delle cellule (leucociti) ove si dispongono a cumuli di varie coppie (fig. 218), che presentano uguali dimensioni fra di loro.

Quando sono endocellulari si dice sia possibile dimostrarne la capsula: certo tale dimostrazione è difficile, e in ogni caso meno facile che per il pneumococco.

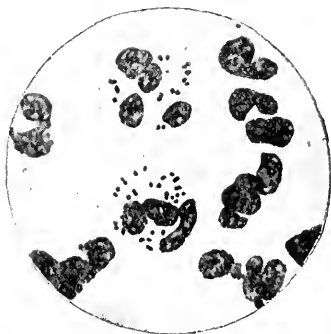


fig. 218.

Non resistono al Gram, specialmente le forme estracellulari; però le forme endocellulari che si trovano nei pus vecchi possono resistere, quando non si faccia la colorazione di contrasto.

Sono immobili, aerobi obbligati. L'optimum di temperatura per il loro sviluppo è fra 36° e 37°, però possono anche svilupparsi, in substrati speciali, a 21° e a 38°-39°.

#### Caratteri culturali.

È difficilmente coltivabile, almeno nei comuni terreni, e per il suo sviluppo è necessaria la presenza di siero di sangue non coagulato (in genere di albumina non coagulata).

Turrò afferma di averlo coltivato in gelatina acida e di aver osservato la fluidificazione della gelatina alcalina, ma vi ha chi sospetta che il germe coltivato non fosse il gonococco.

È meglio ricorrere all'*agar del Thalmann* (agar all'infuso di carne addizionato con  $\frac{2}{3}$  della quantità di lisciva sodica occorrente per completamente neutralizzarlo). Su questo terreno per strisciamento si ha una patina sottile, lucente, semitrasparente, limitata alla linea d'innesto e in genere ad un tratto solo dell'innesto, a bordi leggermente sinuosi. Se il materiale si distende in modo da aver la formazione di *colonie*, queste sono sottili, a bordi sinuosi da prima, poi si espandono, si sollevano, diventano bianco-sporche, sempre però conservando i margini alquanto pianeggianti e trasparenti.

Lo stesso sviluppo, quando si ha, si osserva sui vari agar preconizzati: agar al siero di sangue umano, agar al siero di sangue di vitello, agar al siero di sangue di coniglio, agar al sangue, agar al liquido ascitico, agar al liquido pleurico, agar al liquido placentare, agar al tuorlo d'uovo, agar all'urina, agar all'urina albuminosa.

Lo stesso sviluppo si osserva anche su un terreno costituito da fette di cervello di cavallo.

*Su patate* non si sviluppa, però Roux dice di avere ottenuto una patinella sottile, traslucida, appena visibile come quella del *b. typhi*.

Si sviluppa male in brodo ordinario glicerinato, anche con aggiunta di sangue: lo sviluppo è anche limitatissimo nel liquido di Cantani jun. (liquido ascitico, addizionato di glicerina mista a sangue). Si svilupperebbe intorbidando leggermente da prima, con deposito fiocoso-mucoso, poi il brodo ridiverrebbe limpido.

Si sviluppa meglio in *urina*, o acida o albuminosa, dando un intorbidamento diffuso con deposito mucoso e un anello fiocoso dove il menisco liquido tocca la parete della provetta.

### Caratteri biologici.

I caratteri biologici sono poco o punto studiati.

È patogeno, specialmente per l'uomo ove produce una serie di lesioni che si riferiscono alle mucose e anche agli organi: catarrhi, sinoviti e anche setticemie.

Il meccanismo d'azione della sua azione patogena sarebbe, secondo alcuni, dovuto ad un veleno che si vuole sia una tossina che rimane nel corpo batterico: infatti, mentre non si può separare dai corpi batterici, è facilmente distrutto a 60°-65°. Wassermann dimostrò che i filtrati di brodocoltura passati attraverso la candela sono privi di azione tossica, e che il veleno rimane fuori del filtro. Si tratta di un veleno capace di dare fenomeni locali in animali (ascessi o necrosi).

### Diagnosi.

La ricerca del gonococco si fa nel pus delle uretriti dell'uomo, nel secreto vaginale delle donne, oltrechè in altri materiali provenienti da affezioni gonococciche di altri organi (occhi, articolazioni, ecc.).

La ricerca nel pus si fa mediante colorazioni.

Il materiale si distende sul vetrino, si essicca (alla fiamma a debole calore o all'aria), si fissa alla fiamma (benchè sia meglio immergerlo per qualche minuto nell'alcool) e si colora.

Se non si vogliono ottenere doppie colorazioni, basta colorarlo con fucsina di Ziehl diluita (1:10) a freddo o a modico calore o col bleu di Löffler o meglio con tionina fenica (soluz. satura in acqua fenica all'1 ‰).

Se si vogliono ottenere doppie colorazioni, allora si possono usare diversi procedimenti, tra cui il migliore è quello di Schütz.

*Metodo di Neisser.* — Si colora a caldo per qualche minuto in una soluzione alcoolica satura di eosina; si asciuga con carta bibula e si colora per 15 secondi con una soluzione alcoolica satura di bleu di metilene, si lava con acqua, si essicca e si include.

I gonococchi e i nuclei delle cellule appaiono colorati in bleu, il protoplasma dei leucociti in rosso.

*Metodo di Schütz.* — Si preparano due soluzioni, una di bleu metilene fenica (sol. acq. sat. in acido fenico 5 ‰). L'altra di safranina acquosa molto diluita.

I preparati seccati e fissati si tengono nella prima soluzione per 5-10 minuti.

Quindi, stando al metodo originale, si decolorano con acido acetico 1 ‰ per pochi secondi e dopo lavati si colorano con safranina.

Noi però consigliamo di non fare il passaggio nell'acido acetico perchè decolora facilmente i gonococchi.

Quando i preparati riescono bene, ciò che si ottiene dopo una certa pratica, regolando opportunamente l'azione della seconda soluzione colorante, si ha che i batteri rimangono colorati in bleu, i leucociti e i loro nuclei in color lacca, le cellule epiteliali in bleu pallido.

La diagnosi si fonda sulla disposizione del gonococco ad ammassi fuori ed entro le cellule e sulla forma delle coppie a chicchi di caffè. Essa riesce molto facile quando si tratta di ricercarlo nel pus di uretriti maschili: è invece difficoltosa quando il pus provenga da metriti (spesso in questi casi non lo si trova neppure o se ne trova solo qualche forma extracellulare).

È quindi assolutamente necessario ricorrere a procedimenti che permettano di differenziarlo dagli altri germi che lo accompagnano, alcuni dei quali sono molto simili.

Si consigliano anzitutto alcuni procedimenti:

1° di colorazione semplice. I preparati seccati ma non fissati si colorano con una soluzione acquosa di rosso neutro al  $\frac{1}{2}$ -1% o di violetto puro di cresile all'1:10000. Con la prima soluzione i gonococchi rimangono colorati in rosso e gli altri batteri si colorano appena: con la seconda rimangono invece colorati in bleu insieme ai nuclei delle cellule di pus, mentre gli altri batteri o rimangono scolorati o si colorano appena.

2° di colorazione doppia. Si colora il preparato col metodo del Gram, usando anche la colorazione di contrasto: i supposti gonococchi debbono rimanere scolorati con la seconda soluzione, perché non resistono al Gram. Nel fare questa colorazione, che spesso volte è di capitale importanza per escludere o no la presenza del gonococco in un dato pus, bisogna ricordare che i germi che ordinariamente se provengono da colture non resistono al metodo del Gram, vi possono resistere se si trovano nel pus: il gonococco si cita precisamente ad esempio di quest'ultimo comportamento. Quindi è bene seguire le indicazioni del Weirich nel procedere alla colorazione. Si tiene il preparato 1-2 minuti nel liquido di Ehrlich, 1-3 nel liquido del Gram e si lava bene in alcool assoluto, ecc.

Si può anche tentare una doppia colorazione: fra le tante che danno risultati più o meno buoni, realmente, quella del Nicolle è la preferibile.

A tal uopo si usa il violetto fenico invece del violetto di Ehrlich e dopo il passaggio nel liquido del Gram, si decolora con alcool-acetone, si lava con acqua e poi si ricolora con fucsina (soluzione alcoolica al 5% in alcool a 95°) per 1-2 secondi, si lava, si asciuga e si osserva.

I gonococchi debbono rimanere colorati in rosso dalla fucsina, mentre gli altri microrganismi rimangono colorati in violetto.

Quando però anche usando queste colorazioni si rimanga incerti sulla diagnosi, è necessario procedere a ricerche culturali.

Se il germe si trova in coltura, prima si fanno strisciamenti del materiale nei terreni ordinari (agar e gelatina) e in terreni di coltura speciali (l'agar di Thalmann per ora pare il migliore) (V. pag. 252).

Nei primi, se si tratta di gonococco, non si deve avere sviluppo, mentre nei secondi può aversi.

Il germe sviluppato in questi ultimi deve avere poi i noti caratteri del gonococco di Neisser morfologici e culturali.

Se nel materiale di semina il germe si trova associato ad altri, allora si fanno senz'altro piastre nell'agar di Thalmann, e le colonie che si sviluppano si isolano e si innestano in altro agar di Thalmann per poter aver materiale da sottomettere alla prova del Gram, e in gelatina (dove il gonococco non vi cresce).

Ciò perché in base al resistere e al non resistere al metodo del Gram e allo sviluppare in gelatina, sono stati differenziati i vari germi che si assomigliano al gonococco del Neisser e che possono trovarsi nel pus di metriti. Essi sono stati dal Bosch distinti in tre gruppi:

1° germi che in agar danno colonie gialle;



- 2° germi che in agar dànno colonie a centro giallastro e a margini chiari;  
 3° germi che in agar dànno colonie bianche o grigiastre.

Nel I gruppo si trovano 2 germi che liquefanno la gelatina :

- il *diplococcus subflavus* di Bunn;
- il *dipl. giallo-citrino* di Steinschneider :

il primo resistente, il secondo non resistente al Gram; e due altri germi che non sono liquefacenti :

- il *dipl. giallo non liqef.* (Legrain) ;
- il *dipl. citreus conglomeratus* (Bunn).

Questi germi del 1° gruppo non si possono confondere col gonococco, sia per il pigmento giallo, sia perchè si coltivano facilmente su tutti i terreni.

Nel II gruppo si ascrivono tre germi tutti liquefacenti la gelatina: non si conosce bene il loro comportamento rispetto al Gram. Sono :

- il *dipl. bianco-giallastro* del Legrain ;
- il *mier. aranciato* ;
- il *mier. ochroleucus*.

Nel III gruppo si trovano due germi non liquefacenti, differenziabili dal gonococco perchè prendono il Gram :

- il *dipl. lacteus fariformis* (Bunn) ;
- il *dipl. bianco-grigiastro* (Legrain).

Due altri germi, pure non liquefacenti, che non resistono al Gram, ma che si differenziano dal gonococco per la loro facile coltivabilità :

- il *mier. bianco-grigiastro* (Steinschneider) ;
- il *mier. albicans amplus* (Bunn), ospite della vagina.

E un quinto germe che fluidifica la gelatina e che resiste al Gram :

- il *dipl. a colonie foliacee* del Legrain, riscontrato nel muco uterino.

Infine due altri germi che più facilmente si possono confondere col gonococco e non prendono il Gram; essi però fluidificano la gelatina :

- il *dipl. della culco-ruginite* dei bambini di Vibert ;
- l'*orchio-cocco* (Eraud-Hingouneq).

Ma il primo si coltiva facilmente e il secondo non è mai endocellulare e si riscontra solo in uretre sane.

In alcuni casi giova fare altre diagnosi differenziali.

Così può accadere di dover cercare il gonococco in oftalmiti: in tali casi bisogna ricordare di non confonderlo col così detto *tracomacocco* al quale erroneamente è stata attribuita la causa del Tracoma.

Esso ha caratteri morfologici simili a quelli del gonococco, ma è più piccolo e presenta di caratteristico il fatto che la linea di separazione fra i due cocci è poco netta, così che per metterla in evidenza occorrono soluzioni coloranti diluitissime. Inoltre resiste al Gram e si sviluppa bene nei comuni terreni di nutrizione.

A *piatto* dà colonie bianche, opache, piane, non liquefacenti.

Per *iniezione* si ha un nastrino a rosario, come quello dato dallo streptococco, ma in superficie si ha una patina a zolle bianco-grigiastre da prima, poi giallastre.

Su *agar e su patate* per strisciamento si ha una patina uniforme, madreperlacea (grigio-azzurra).

## MENINGOCOCCO.

L'etiologia della meningite cerebro-spinale epidemica fu riferita a vari germi: al *diplococco* di Fränkel, allo *streptococco piogeno* e anche agli *stafilococchi piogeni*. Gli studi recenti hanno però dimostrato che l'etiologia della tipica meningite epidemica va ri-

ferita a un unico germe: il *meningococco*, che è facilmente fagocitato per cui è quasi sempre, o sempre, endocellulare.

Si trova a coppie a forma di eliceo di caffè come il gonococco, ma le varie coppie non sono eguali fra di loro per dimensioni, nè sono colorabili con la stessa intensità, al Gram alcune coppie resistono, altre no.

Coltivato nei comuni terreni di nutrizione, alcune forme si sviluppano facilmente, altre meno, per cui se ne fecero vari tipi, dal Pfaundler ridotti a due: cioè il tipo Weichselbaum e quello Hübner.

Il tipo Weichselbaum non resiste al Gram, non si sviluppa sulla gelatina, nè su patate. Il tipo Hübner resiste al Gram, e si sviluppa anche su gelatina e patate.

Questi due tipi si distinguerebbero anche morfologicamente perchè il primo presenterebbe forme a due o a corte catene e anche a tetradi, mentre il secondo forme sempre a catene o a grappoli.

Ma fra l'un tipo e l'altro si trovarono così numerose forme intermedie che non è lecito affermare realmente esistenti i due tipi suddescritti: è più logico ritenere che si tratti di un solo germe che merita il nome del Weichselbaum di *micrococcus intracellularis meningitidis*, capace di modificare certi suoi caratteri, a seconda degli individui in cui si sviluppa e delle epidemie che produce.

Il meningococco è poco patogeno per gli animali: l'animale più recettivo è il sorcio che muore per setticemia; segue la cavia dove si osservano però solo degli ascessi; non si può mai riprodurre la meningite, anche quando l'inoculazione si faccia nello speco vertebrale, o sottodurale o intramervosa.

#### DIPLOCOCCO DELL'OSTEOMALACIA.

Fu isolato dall'Arcangeli e dal Fiocca in casi di osteomalacia (innestando in brodo frammenti di costole malate).

È un diplococco della grandezza di 0,60, 0,80  $\mu$  ad elementi rotondi, che si colora bene colle comuni soluzioni idroalcoliche di anilina, che resiste alla decolorazione col metodo di Gram. È sprovvisto di capsula.

Facendo preparati dal brodo si veggono in grande maggioranza coppie isolate: qualche volta anche tetradi: più raramente catene di 6-7 elementi.

Nei preparati colorati fatti per strisciamento dal midollo delle ossa, il diplococco si presenta a coppia o a catene di pochi elementi, i quali hanno dimensioni alquanto maggiori che nei terreni di coltura.

Nelle piastre di gelatina la forma delle colonie non ha nulla di speciale. Si veggono dischi circolari con bordi lisci e la parte centrale oscura, i quali dopo alcuni giorni si circondano dei soliti aloni di liquefazione della gelatina.

In gelatina per infusione a 16° si ha scarso sviluppo in superficie: lungo la traccia dell'ago una striscia biancastra fatta da colonie molto ravvicinate. La parte superiore fonde fra l'8° e il 10° giorno e tutto il resto dal 21° al 23° giorno.

Sull'agar a becco di tilanto lo sviluppo avviene più tardi, dal 4° al 7° giorno. Incomincia a formarsi una patina biancastra sul pezzettino di osso, la quale poi finisce per ricoprirlo interamente. A questo punto nessuna colonia si osserva ancora sulla superficie dell'agar (4°-5° giorno): poi anche su questa il microrganismo si diffonde ed allora appaiono colonie staccate, rotondeggianti, biancastre come cera. Nei passaggi successivi lo sviluppo si fa in modo più rapido e abbondante: le colonie confluiscono originando una patina biancastra, lucente che talvolta mal si differenzerebbe da quella di uno stafilococco bianco.

I pezzettini di osso intorno a cui si sia avuto un ricco sviluppo del microrganismo, sembra che subiscano un processo di decalcificazione, poichè si mostrano, riosservati dopo 2-3 mesi che sono stati nell'agar, rammolliti e pergamenacei.

Nei brodi, innestati coi frammenti di costola, lo sviluppo a 31°-35° C. ha luogo fra il 2° e il 3° giorno.

L'intorbidamento è uniforme: dopo 4-5 giorni si formano fiocchetti, che precipitano al fondo lasciando il liquido soprastante quasi limpido. La reazione alcalina dei brodi non cambia neanche dopo molti giorni di coltura.

In siero di sangue solidificato il diplococco cresce formando una patina biancastra, spessa, lucente.

In terreni anaerobici il microrganismo cresce bene, ma lo sviluppo ne è meno rigoglioso che nei corrispondenti aerobici.

Con questo diplococco sono stati iniettati cavie, conigli e ratti albini sotto cute e nel peritoneo. Diremo subito che in tutti questi animali non si ebbe mai alcuna reazione flogistica locale. Le cavie iniettate sono state sempre bene. Quanto ai ratti albini, alcuni, dopo 8-15 giorni dall'inoculazione, hanno presentato abbattimento, inappetenza, pelo arruffato e giallo-sporco, andatura tarda e incerta. Questi fenomeni, durati pochi giorni, sono scomparsi; nè si sono avute in seguito recidive.

Quanto ai caratteri culturali, questo microrganismo somiglia moltissimo a quello trovato da Morpurgo in una forma infettiva di osteomalacia dei ratti albini.

#### DIPLOSTREPTOCOCCO DEL REUMATISMO.

Fu isolato nel 1897 dal Coyon e dal Triboulet da casi di reumatismo articolare. È un diplococco cui gli Autori diedero il nome di *micrococcus rheumaticus*, che però formerebbe anche delle catenelle brevi, resistente al Gram, sprovvisto di capsula. Iniettato negli animali (scoiattoli) è capace di produrre una poliartrite. Secondo alcuni sarebbe un ordinario abitatore delle cavità boccale o naso-faringea, che in determinate condizioni diventerebbe patogeno.

### III. — Tetrageni.

Sono rappresentati da numerosi germi disposti a gruppi di quattro elementi: essi sono stati isolati da diverse affezioni, da raccolte purulente, da caverne polmonari, da affezioni polmonari e nasali. Fra i numerosi tetrageni descritti dagli A.A. alcuni sono vere e proprie sarcine, altri devono essere ascritti fra gli stafilococchi.

Così il *t. subflavus*, il *mobilis ventriculi*, il *variabilis*, il *concentricus*, il *buccalis* sono germi che in maggioranza vanno ascritti alle sarcine, salvo forse il *t. mobilis ventriculi* che pare una varietà del tetrageno albo. Come tetrageni tipici non rimangono che: i tetrageni *albus*, *citreus*, *septicus*, *aureus*, e fra questi il *t. aureus* è discutibile se non sia uno stafilococco.

I veri tetrageni hanno, secondo noi, caratteri tali che non è possibile confonderli con gli altri germi.

Sono germi resistenti al Gram, più piccoli delle sarcine, immobili, salvo forse il *t. mobilis ventriculi* di Koch.

*In gelatina a piatto* danno colonie rotonde, rilevate, a cupola, a bordi regolari, di consistenza mucosa.

*In gelatina per infissione* si ha uno sviluppo rachitico o mancante: quando v'è, lo si osserva appena visibile lungo la striscia d'innesto. Solo coll'andar del tempo e dopo ripetuti passaggi si può avere uno sviluppo più rigoglioso e una tarda fluidificazione che si osserva dopo qualche settimana.

*Su agar a becco di flauto* si ha una patina umida, omogenea, rilevata, diffusa, mucosa.

*In brodo* non si ha intorbidamento, al fondo si nota un deposito fioccoso, mucoso, così che, sbattendo il tubo, si vede un fiocco salire nel liquido, senza frammentarsi e staccarsi dal fondo del tubo.

Per distinguere i quattro tetracocchi su riferiti si deve badare al pigmento: due non ne formano. L'*albo* e il *settico*: ma si distinguono fra loro, perchè il primo non è patogeno, mentre il secondo è patogeno (setticcemico per i sorci). Il *citreus* dà un pigmento giallo e l'*aureus* un pigmento giallo-oro.

Bardoni ritiene si tratti di una sola specie capace di modificarsi secondo certe condizioni. Così egli vide che esponendo al sole le colture su agar, l'*albo* si trasformava nel *citreo* e ridiveniva *albo* riportando le colture in laboratorio. In agar glicerinato l'*albo* diveniva bianco-gialliccio, per ridivenire dopo alquanto tempo ancora *albo*.

Ai tetrageni si dà una certa importanza in patologia umana (si sa la gravità dei processi polmonari, quando nelle caverne si riscontra il *tetragenus septicus*).

La diagnosi dei tetrageni è essenzialmente fondata sulla loro disposizione a quattro: per questa loro caratteristica non possono confondersi cogli stafilococchi o coi micrococchi: potrebbero però confondersi con delle sarcine; ma queste in genere sono sempre di dimensioni maggiori: almeno quelle che potrebbero confondersi con i quattro tetrageni su ricordati.

### IV. — Streptococchi.

Sono quei cocci che tendono a riunirsi a catene composte di un numero più o meno grande di coppie di due elementi: alcuni hanno questa tendenza solo in determinate condizioni di vita (*diplococco di Fränkel*); per altri è la loro caratteristica (*streptococchi propriamente detti*).

## DIPLOCOCCO LANCEOLATO

**Caratteri morfologici.**

Il *pneumococco* di Fränkel o *streptococcus lanceolatus* o *diplococco della polmonite* è un germe rappresentato da forme rotonde disposte a coppie di cui ogni elemento ha il polo distale più sottile, donde il nome di lanceolato (fig. 219).



fig. 219.

In queste coppie i germi sono trattenuti insieme da una sostanza cementante non visibile, ma dimostrabile però in quelli provenienti dall'organismo perchè intorno ad essa si addossano le sostanze colloidali del siero del sangue che sono colorabili coi colori acidi anilini (per es. col metodo di Gram si può dimostrare la capsula colorata in rosa dall'eosina).

È un germe immobile, resistente al Gram.

**Caratteri culturali.**

Si sviluppa fra 1° e 42° con un optimum alla temperatura di 37°: a differenza però di altri microrganismi da questo optimum non si scende gradatamente al limite minimo di 14°, ma bensì in modo saltuario così che un diplococco che si sviluppa bene a 37° si può sviluppare male a 25° e ancora bene a 20°, peggio a 18° e meglio a 14°.

Si sviluppa in tutti i comuni terreni, però assai male nei terreni gelatinizzati: sono da preferirsi i terreni con agar.

*In gelatina a piatto* forma colonie a contorni puntiformi, finalmente granulose, appena visibili.

*In gelatina per infissione* forma un nastrino sottilissimo a corona di rosario, senza sviluppo alla superficie o con sviluppo appena visibile.

*In agar a piatto* si sviluppa meglio che in gelatina formando colonie puntiformi, come goccioline di rugiada, rotonde, circoscritte, cupoliformi, trasparentissime che al microscopio si mostrano finalmente granulose, raramente con un centro più ispessito.

*Su agar a becco di flauto* si forma una patina sottile, cerulea, trasparente, poco diffusa, discontinua perchè data da singole colonie che difficilmente si fondono insieme. Si può però ottenere talora una patina continua, sempre trasparente, sottile e cerulea, con una serie di passaggi da tubo a tubo.

*Su patate* si ha uno sviluppo impercettibile: la superficie di strisciamento si fa lucente.

*In brodo* si sviluppa intorbidandolo diffusamente e producendovi un leggero deposito e qualche volta anche un sottile velo alla superficie.

### Caratteri biologici.

I caratteri biologici sono male studiati, essendo difficile mantenere il germe a lungo vivo nelle colture: è impossibile quindi stabilire se possieda degli enzimi per gli amidi, per l'amigdalina, ecc.

È patogeno per gli animali, che uccide di setticemia: risalendo nella scala zoologica dai roscicchianti ai mammiferi superiori si vede come esso tenda a localizzarsi in organi nell'uomo, a preferenza nei polmoni e nella pleura.

Il meccanismo della sua azione patogena fu oggetto di molti studi. Si pensò a un veleno solubile del tipo di una tossina, ma la dimostrazione non è stata data o meglio si è potuto dimostrare che le brodocolture filtrate hanno un'azione leggermente tossica, che si distrugge a 60°, ma tale azione è estremamente debole.

Si cercò quindi il veleno pneumonico in colture non filtrate e si vide che esse possono determinare la morte degli animali in piccolissime dosi anche se i germi sono morti.

Si pensò quindi a una proteina.

Gli studi di Carbone conducono ad ammettere che il germe agisca per una azione tossica indiretta, dovuta a veleni secondari. Il pneumococco cioè sarebbe dotato di una potentissima *leucolisina*, la quale libererebbe dai leucociti il nucleoistone, che si scinderebbe poi in nucleo-albumina e istone: l'istone in realtà possiede azione tossica sugli animali.

La presenza di una potente leucolisina venne da me dimostrata nelle colture del diplococco usando il metodo bioscopico di Neisser e Wechsberg, alquanto modificato.

### Diagnosi.

La DIAGNOSI del diplococco di Fränkel nello sputo, nel sangue, negli organi, ecc., si fa per mezzo:

1° di *preparati colorati*. Questi si fanno col metodo del Gram, al quale i germi resistono.

Nello sputo e nel sangue mostransi colorati in violetto scuro e la capsula in rosa (usando come colore di contrasto l'eosina).

Attesa la loro forma caratteristica, anche se sono disposti a catena, non è possibile confonderli con lo streptococco.

Si possono anche far preparati con uno dei metodi adatti a mettere in evidenza la capsula (V. pag. 222), ma è meglio servirsi del procedimento del Gram.

2° dell'inoculazione in animali. Si usa in genere inoculare lo sputo emulsionato in brodo sterile (ciò che si fa sbattendolo con una bacchetta di vetro in un bicchiere a calice o in una provetta) nel sottocutaneo dei conigli, scegliendo quello della parete addominale o di un'orecchia. Dopo 24 h si incide la parte e si semina in brodo un po' del materiale raccolto con l'ago di platino o se ne fanno preparati. Si può anche attendere la morte dell'animale e fare preparati dal sangue e dalla milza: ma ciò vale solo quando si voglia fondare la diagnosi sullo esame microscopico; se si vogliono fare colture, è necessario non attendere che l'animale muoia, perchè è assai difficile non trovarle inquinate dal *b. coli*, che entra in circolo nel periodo preagonico.

Aleune volte accade che il coniglio inoculato non muoia: questo inconveniente si evita inoculando, come consiglia Gamaleia, i topolini: l'inoculazione si fa alla base della coda e quando muore l'animale, si fanno innesti in agar e brodo dal midollo osseo e dal sangue del cuore.

La IDENTIFICAZIONE del diplococco in coltura si può fare tenendo presenti i suoi caratteri morfologici e culturali.

Si è consigliato anche di ricorrere alla prova sierodiagnostica; ma è inutile per lo scopo ricorrere al siero di individui infetti, poichè si è visto che esso non ha potere agglutinante diverso in massima da quello del siero di individui sani: secondo alcuni non è neppure accertato se l'abbia un po' di più il siero degli individui presso la crisi. Si potrebbe ricorrere, è vero, al siero di animali immunizzati; ma già non è facile immunizzare gli animali verso il diplococco e poi non è sempre alla mano in tutti i laboratori ricorrere a tale procedimento.

Nè è consigliabile fondare la diagnosi sul risultato dell'inoculazione negli animali, perchè la maggioranza dei diplococchi coltivati, inoculati negli animali (conigli, topi) non spiegano più alcuna azione: soltanto quando le colture provengono di recente dall'animale e non abbiano subito che 1-2 passaggi, vi si può ricorrere.

In questo caso è bene, appena muore il primo animale, raccogliere il sangue e chiuderlo in tubetti alla lampada o essiccarlo in un essiccatore e così conservarlo per le ulteriori inoculazioni in animali e per passaggi in coltura.

Infine ci si può servire della prova emolitica e leucolitica, perchè il diplococco di Fränkel è dotato di una emolisina e di una leucolisina che si trova nelle brodocolture (specie se aggiunte con siero di sangue di conigli, inattivato a 55°).

DIAGNOSI DIFFERENZIALE. — Del diplococco lanceolato si descrissero numerose varietà basate sui caratteri morfologici e biologici.

Le varietà fondate su differenze morfologiche non hanno importanza: se ne conoscono che intorbidano più o meno il brodo, che si sviluppano più o meno in gelatina, ecc.

Rispetto al modo di diportarsi negli animali si possono distinguere i due tipi del Foà:

Uno è quello che inoculato negli animali non dà reazione locale, ma produce coaguli fibrinosi nei vasi e milza dura, e l'altro è quello che produce fenomeni locali, non dà coaguli fibrinosi nei vasi e una semplice iperemia della milza, così che questa appare ingrandita e molle.

Il primo è il *meningococco* o forma fibrinogena, e il secondo è il *pneumococco* o forma edematogena. Va però notato che fra le due forme se ne trovano delle intermedie: la forma edematogena inoculata per via endovenosa può produrre gli stessi fatti della forma fibrinogena.

Evvì poi la *varietà neurotossica* del Tizzoni e Panichi.

Essa è un po' più grande del diplococco lanceolato, resiste meno al metodo del Gram, è assai meno vitale nelle colture e non si sviluppa affatto in gelatina a temperatura ordinaria.

Inoltre essa produce una sostanza che, inoculata in animali, è causa di fatti nervosi, come paresi, convulsioni toniche e cloniche, ecc.

Questa varietà fu trovata capace di produrre una sostanza neurotossica solo in determinate brodocolture di composizione ancora ignota. L'azione tossica sarebbe dovuta a una vera tossina (neurotossina), inoltre il germe produrrebbe anche una emolisina, una sostanza pirogena (pirotossina), un veleno ad azione marantica, nonché un altro veleno da cui dipenderebbero le lesioni delle sierose degli apparati respiratorio e digerente.

Gli animali inoculati col veleno muoiono solo se inoculati per via sottocutanea; il veleno ha meno azione se inoculato nelle vene.

Ciò fece supporre col Carbone che questa forma sia capace di produrre una grande quantità di leucolisina, la quale quando si fa l'inoculazione sottocutanea, agendo sulla gran massa di leucociti richiamati *in loco* darebbe luogo a una grande produzione di istone, causa della morte.

Si citano poi otto varietà isolate del Pansini e quattro del Banti che non si sviluppano in gelatina a 20°, ma sono varietà non bene individualizzate e che devono essere considerate come forme intermedie fra i due tipi del Foà.

## STREPTOCOCCO PIOGENE.

### Caratteri morfologici.

È un germe di forma rotonda o ovalare a poli non acuminati, riunito a coppie in catene lunghe o brevi, resistente al Gram.

### Caratteri culturali.

Si sviluppa fra 25° e 38°-39° con gli estremi a 41° e a 10°-12°. A differenza del diplococco lanceolato non ha speciali predilezioni per i vari terreni di cultura.



*In gelatina a piatto* forma colonie puntiformi nello spessore della gelatina stessa, finalmente granulose, senza caratteri speciali.

*In gelatina per infissione* non si ha alcuno sviluppo in superficie, lungo la linea d'innesto si osserva un nastrino interrotto a corona di rosario (fig. 220).

*Su agar a becco di flauto* forma una patina sottile, cerulea, trasparente, che risulta dalla confluenza di colonie piccolissime, traslucide, simili a goccioline di rugiada, ma che poi si fanno leggermente opache: talora si possono osservare piccole colonie isolate in modo da non formare una patina continua.

*Su patate* si ha uno sviluppo come quello per strisciamento su agar, però la patina non è così evidente.

*In brodo* si sviluppa senza intorbidarlo. Alcuni AA. però osservarono l'intorbidamento: anzi Lehmann e Neumann lo descrivono come un germe che intorbida costantemente.

Forma sempre un deposito granuloso e non produce mai velo alla superficie.

*Il latte* è ora coagulato, ora no: non si sa bene in quali condizioni bisogna mettersi per avere o non avere coagulazione.

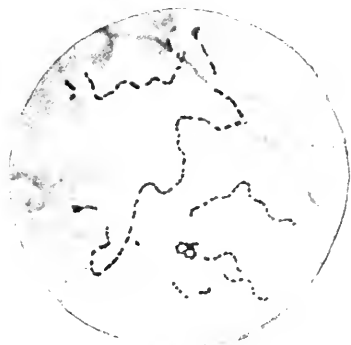


fig. 220.

### Caratteri biologici.

Non produce indolo, qualche volta produce gas in terreni zuccherati. È patogeno e uccide gli animali per setticemia. Man mano che si sale nella scala zoologica tende a localizzarsi, e una volta localizzato, con facilità si diffonde nell'organismo dando luogo ad una mortale setticemia. Non si è ancora dimostrata né la sua tossina né la sua proteina. Si sa solo che i precipitati di brodocolture non filtrate, sono abbastanza tossici.

### Diagnosi.

La diagnosi dello streptococco è delle più semplici per la disposizione a catena delle coppie dei cocci, la sua resistenza al Gram, ecc.

Qualora nascessero dei dubbi si può ricorrere, secondo Santori, alla prova sierodiagnostica, perchè il siero di cavia infetta da streptococco agglutina le colture intorbide (col metodo dello sbattimento) sino ad 1:40, mentre il siero di cavia sana non agglutina al di là di 1:5.

Bisogna però ricordare che sono stati isolati e descritti vari streptococchi, che alcuni hanno voluto differenziare l'uno dall'altro: quello dell'erisipela da quello del flemmone, da quello della gangrena, ecc. Certo si è che se si immunizzano dei cavalli verso un determinato streptococco, il siero non sempre serve a salvare gli animali da uno streptococco di altra provenienza; per ciò non è difficile che si tratti di una famiglia di germi e non di una specie.

Però i tentativi finora fatti per darne un'esatta classificazione non raggiunsero lo scopo. Non corrispondente alla realtà, ma seguita dalla maggioranza degli AA. è la classificazione del Lingelsheim, il quale li distinse in 2 gruppi secondo la lunghezza delle catene nelle brodocolture:

1° *strept. brevis* a catene brevi in brodo;

2° *strept. longus* a catene lunghe in brodo.

Gli STREPTOCOCCI BREVI sono rappresentati da una forma (*str. brevis*) che intorbida il brodo, fluidifica la gelatina (non molto però), si sviluppa bene su patate a 10°-12° e non è dotata di virulenza.

Agli STREPTOCOCCI LUNGI appartengono invece i piogeni, che danno in brodo un deposito mucoso, non fluidificano la gelatina, non si sviluppano su patate a 10°-12° e hanno i limiti di sviluppo fra 14° e 16°.

Questi streptococchi lunghi si distinguerebbero in diverse varietà:

*turbidus*: isolato da erisipela, angina, flemmoni (intorbida il brodo);

*viscosus*: isolato dalla polmonite streptococcica (broncopneumonia equina), da infezioni puerperali, più raramente da flemmoni (non intorbida il brodo, forma un deposito mucoso al fondo);

*conglomeratus*: isolato da casi di scarlattina e di piemia grave (le sue lunghe catene sono intrecciate fra loro; dà un sedimento granuloso nel brodo);

*equinus*: isolato dalle adeniti del cavallo (ha elementi più grossi di quelli dello streptococco comune, tendenza ad appiattirsi; nel brodo forma ammassi aderenti al tubo; pare non sia patogeno per gli animali).

Un'altra classificazione è quella del Marot, che distingue gli streptococchi in due gruppi, secondo che hanno o no uno sviluppo apparente sulle patate.

#### I. Streptococchi che non danno sviluppo apparente su patate:

Streptococco dell'erisipela:

- » dell'infezione puerperale;
- » piogeno;
- » mrisettico;

Diplostreptococco di Barbier;

Streptococco di alcune angine flemmonose e a false membrane.

#### II. Streptococchi che danno uno sviluppo apparente su patate:

Streptococco breve della saliva:

- » dell'angina semplice;
- » della saliva di Espine;
- » dell'angina semplice di Espine;
- » della broncopneumonia di Espine;
- » di Marot.

Sono poi state descritte forme pigmentate a pigmento giallo-bruno, rosso-mattone, dal Pasquali; forme fluidificanti, che si distinguono in quelle che fluidificano lentamente e in quelle che fluidificano rapidamente; forme che producono acido lattico levogiro (mentre il comune *str. piogene* produce acido lat-

tico inattivo, lo *streptococco della erisipela* e qualche forma isolata della scarlattina producono acido lattico levogiro); *forme che producono gas* (così lo *streptococco della scarlattina* si differenzerebbe da quello della erisipela perchè produrrebbe H nei terreni zuccherati; lo *streptococco agalariae (mastitidis sporadicæ)* produrrebbe acido paralattico destrogiro, molto gas e decomporrebbe lo zucchero d' uva).

Allo stesso gruppo si ascrivono molti cocchi del latte, del burro, del formaggio, male studiati e di cui si parla senza bene sapere che siano: si tratta di germi aerobi, anaerobi facoltativi, anaerobi obbligati (*streptococcus acidi lactici*), che producono gas (*m. soratalii*) o non ne producono (*m. acidi paralaetici*), che si sviluppano o no in gelatina. Oltre i citati, si parla anche degli *strept. tyrogenes. albidus, magnus, granulatus, pallus, pallidus*: ma questi non hanno nessuna relazione con gli streptococchi piogeni e non sono patogeni.

Dagli streptococchi sono poi facilmente distinguibili quelle forme di cocchi a catena forniti di una sostanza che li avvolge come l'*involutus* e il *mesenterioides*.

Lo *strept. involutus* si coltiva in siero e in brodo con aggiunta di siero e vi forma in alto uno strato cremoso giallo. Facendo un preparato de questo strato, si vede che è costituito da una grande quantità di cocchi a zooglee: su agar con siero si hanno poi colonie granulose con un alone a granuli rinfrangenti.

Lo *strept. mesenterioides* è causa della malattia degli zuccheri conosciuta col nome di nova di rane: nelle masse zuccherate si osservano delle zolle ovoidali con un punto centrale di aspetto cristallino. Facendo un preparato si vede che le zolle sono costituite da zooglee di streptococchi tenuti insieme da una specie di guscio molto resistente. Caratteristica è l'infissione in gelatina a *stalattiti*.

## CAP. XIV.

### SARCINE.

Le sarcine (Goodsir) sono dei batteri sferici (od ovoidi) che si dividono ordinariamente secondo tre piani normali l'uno all'altro, per cui si formano dei pacchetti di germi cubici « a balla di cotone ». Ciò non toglie però che possano dividersi anche secondo due soli piani per cui si hanno degli aggruppamenti a quattro simili ai tetrageni: anzi è generalmente questo l'aspetto in cui si presentano nelle ordinarie colture, mentre la disposizione ad aggregati cubici non si nota che in determinati substrati (p. es. nel decotto di fieno).

Sono germi che ricordano alcune alghe e precisamente i *croococchi*; però non è detto che esse stesse siano realmente delle alghe.

Diffuse nell'acqua, nel suolo, nell'aria, si trovano quindi ovunque si depone pulviscolo atmosferico, sugli alimenti, sulla pelle dell'uomo e degli animali. Sembra inoltre che qualcuna abbia una speciale importanza in determinati processi fermentativi.

Il Gruber le ha distinte in due gruppi:

1<sup>o</sup> *quelle che non formano pigmenti nei mezzi solidi di coltura*. Queste si indicano comunemente col nome di *sarcine albe*: ma in realtà si tratta di

molte forme diverse, cui il Gruber dà vari appellativi: alcune sono fluidificanti, altre no, alcune formano colonie regolari, altre rotonde, ecc.:

2<sup>o</sup> *quelle che formano pigmenti gialli, rosei, bruni.* Queste si indicano comunemente col nome di *sarcine lutee, rosee, fusche*; ma in realtà anche qui si tratta di molte forme. Le gialle sarebbero più di 20; le rosee 4; le fusche 2.

Tra tutte queste sarcine vanno ricordate:

la *sarcina ventriculi* che appartiene al primo gruppo del Gruber, tra quelle che formano pacchetti tipici solo nei mezzi liquidi:

la *sarcina pulmonum* che pure apparterebbe allo stesso gruppo, ma che si troverebbe tra quelle che formano pacchetti tipici in tutti i terreni di coltura liquidi e solidi:

la *sarcina di Livenessberg* trovata nelle fosse nasali di un ozenatoso, patogena per il sorcio bianco, le cavie e i conigli (secondo gli studi del Martoglio la sarcina albidia può del pari divenire patogena e non differenziarsi dalla precedente dopo aver subito passaggi in anaerobiosi nei prodotti solubili ed insolubili dello stafilococco piogeno aureo):

la *sarcina di Nagano*, isolata dal pus di un ascesso ovarico, la quale per i caratteri microscopici presentati nel pus stesso e per la sua decolorabilità col Gram ricorderebbe il gonococco di Neisser. Nelle colture ha però l'aspetto di sarcina. Solo aggiungendovi del pus, si ottengono delle forme di degenerazione, che microscopicamente non sono differenziabili dal gonococco. È patogena per il topo, non per il coniglio nè per il piccione. Nel coniglio però colla inoculazione sottocutanea produce un ascesso.

## CAP. XV.

### I GERMI INVISIBILI O ULTRAMICROSCOPICI.

Oltre ai batteri che si osservano coi più forti ingrandimenti microscopici, in questi ultimi tempi si è ammessa e dimostrata l'esistenza di altri esseri piccolissimi, che non si possono osservare coi nostri, e che sono causa di varie malattie, la cui etiologia era sinora sconosciuta.

Questi esseri non si sa se appartengano al regno animale o al regno vegetale, nè se rappresentino degli stadi di vita di altri germi più grandi: si sa soltanto che sono più piccoli di tutti, che passano attraverso materiali porosi i quali non lasciano assolutamente passare alcuna delle note forme batteriche, e che col liquido filtrato si possono riprodurre le lesioni proprie della malattia da cui è stato ricavato il materiale sottoposto alla filtrazione.

Per ricercare germi invisibili in un dato materiale in primo luogo occorre diluirlo, almeno nelle proporzioni da 1 a 30 con soluzione fisiologica di cloruro sodio o con acqua di fonte: poche volte infatti si è ottenuto un filtrato attivo senza diluirlo.

A tal uopo, se solido o si pesta in un mortaio con polvere di vetro e poi si diluisce, oppure, come facciamo in questo Istituto, si impasta con sabbia silicea, e lo si pressa col torchio

di Buchner a 150-300 atmosfere in modo da ottenere un liquido, che si presti meglio alle diluizioni. Queste poi vanno sempre fatte quando il materiale contenga sostanze albuminoidi, le quali occluderebbero facilmente i pori delle candele, e impedirebbero che anche i germi invisibili passassero.

In secondo luogo, è assolutamente necessario possedere dei materiali da filtro attraverso ai quali si sia sicuri non passino altri germi visibili. Perciò bisogna saggiarli con altri batteri visibili. Dalle ricerche sinora fatte sembra dimostrato che i germi più adatti ad un tale controllo siano quelli mobili e possibilmente capaci di pigmentare una coltura: quindi il *b. fluorescens liquefaciens*, il *b. pyocyaneus*, e poi i vibrioni: male si prestano gli immobili benchè vi sia chi si è servito degli *stafilococchi* e del *b. anthracis*, ecc.

Studiando infatti il passaggio di tali germi attraverso adatti materiali porosi, risulta dalle mie ricerche che quei materiali che non lasciano passare i germi immobili (e specialmente lo *stafilococco*), non vuol dire che non lascino passare germi visibili mobili come il *b. del tifo* e i vibrioni.

Per assicurarsi quindi che attraverso una data candela non passino germi visibili o si aggiungono al liquido filtrato alcuni dei batteri mobili ricordati, come hanno fatto alcuni autori, oppure immediatamente dopo, *mai prima*, avvenuta la filtrazione del materiale di studio, si filtra altro liquido avente in sospensione i batteri di controllo.

Poche si innesta il liquido filtrato in adatti terreni di coltura per vedere se questi rimangono sterili: l'esperienza insegna che il miglior procedimento consiste nel far pervenire tracce del liquido filtrato in terreni liquidi (brodo), facendo scorrere la gocciola lungo le pareti (secondo Beyerinck) senza rimescolare il liquido stesso.

In terzo luogo necessita possedere dei materiali a porosità tale da esser sicuri che i germi non passino. A tal uopo si usano le candele di sabbia silicea di Berkefeld e quelle di Chamberland, delle quali come si è già detto (V. pag. 284-286) le segnate con la lettera *B* non lascerebbero passare alcun germe visibile ed invisibile salvo il caso della *horse-sickness* riportato dal Mac Fadyean e quelle con la lettera *F* lascerebbero passare solo alcune forme invisibili.

Le candele si montano in appositi sostegni e il materiale da filtrare o si costringe con la pressione a passare attraverso di esse, o si lascia filtrare da sé, oppure si fa un certo vuoto nel recipiente in cui immette il beccuccio della candela e si facilita il passaggio del liquido attraverso le sue pareti per mezzo dell'aspirazione.

La candela deve esser naturalmente nuova, provata, ossia scelta (V. pag. 286): alcuni usano anche lavarla prima a lungo, costringendovi a passare dell'acqua potabile, ma è un procedimento che può, da un momento all'altro, rendere inservibili le candele. È quindi meglio di lavarle con acqua distillata che si costringe ad attraversare la candela per mezzo di una leggera pressione od aspirazione, e poi subito dopo adoperarle.

Perchè poi un liquido filtrato dia garanzia di esser privo di germi è necessario:

1° che la filtrazione sia fatta rapidamente (in pochi minuti possibilmente);

2° che sia passato attraverso ad una candela molto porosa e a pori finissimi (Berkefeld o Chamberland *F*) prima provata con l'aria e lavata:

3° che il filtrato innestato in brodo col metodo di Beyerinck non dia sviluppo a nessun germe di controllo *mobile* aggiunto al liquido da filtrarsi.

Per facilitare la filtrazione gli autori si sono serviti della pressione fatta per mezzo di una pera di gomma di altro apparecchio: per es. il Di-Vestea si è servito di quello di Gay-Lussac per dimostrare che il virus rabido passa solo se si usa una pressione che superi le due atmosfere (da 2 a 6).

Noi però crediamo molto più opportuno servirci dell'aspirazione, perchè le candele sottoposte a pressione più facilmente modificano la loro porosità in molti punti e possono divenire atte a lasciar passare dei germi visibili che prima non passavano.

Del resto diluendo il liquido opportunamente e servendosi di un materiale precedentemente bene frammentato (con la pressione) Celli e de Blasi hanno trovato da tempo che il virus rabido passa attraverso le candele favorendone il passaggio con un'aspirazione di poco più di 500 mm. di mercurio.

Per potersi però affermare che il liquido filtrato realmente non contiene alcun essere visibile al microscopio, occorre fare preparati a fresco e colorati seguendo le più minute cautele per non infettarlo, e ciò subito dopo espletata la filtrazione.

Il procedimento che io seguo è quello (inedito) che pratica per altro ordine di ricerche il Mari.

Il liquido filtrato viene raccolto in provette o recipienti forniti di tubetti laterali tirati alla lampada.

D'altro canto preparo una pipettina a un estremo tirata alla lampada e all'altro fornita di una strozzatura a cui succede una svasatura ripiena di cotone. Opportunamente inclinando il recipiente, adatto all'orifizio del tubicino quello affilato della pipetta e lascio che entri il liquido. Arresto l'entrata dello stesso a 1 cmc. prima della strozzatura e subito chiudo lo estremo affilato alla lampada. Quindi centrifugo il materiale e poi spezzo l'estremo ed esamino ciò che si è depositato facendone una goccia pendente e un preparato colorato.

Ho anche tentato di aggiungere alla prova microscopica quella biologica di Neisser e Wechsberg.

La tecnica che seguo è quella studiata di recente dallo stesso Mari (inedito). La soluzione cioè di bleu di metilene (V, pag. 302) sterilizzata entro un palloncino con beccuccio laterale, viene introdotta nel tubetto capillare che precedentemente si è riempito a metà del liquido filtrato e poi subito si chiude alla lampada l'estremo. Si pone poi il tubetto in termostato e si vede se si decolora.

Però i risultati sono spesso incerti, altre volte negativi, sicchè io consiglio di non applicarlo, attendendo che venga ben precisato il modo di comportarsi delle soluzioni di bleu di metilene in presenza delle diverse sostanze albumoidi, in contatto o no con l'ossigeno, ecc., lavoro a cui già da vario tempo si è accinto il Mari.

Finalmente di recente si sono fondate molte speranze sul metodo di osservazione microscopica del Siedentopf e Zsigmondy; ma sinora nessuno ha tratto risultati importanti nell'applicarlo alle ricerche biologiche.

Quando finalmente si abbia la sicurezza che il filtrato è amicrobico, allora si può procedere all'innesto del medesimo negli animali seguendo quelle vie e quei metodi che più si credono del caso.

Sinora si è ritenuto che nel liquido privo di germi visibili si debba ammettere la presenza di germi invisibili, quando con esso si riescono a riprodurre le lesioni o i sintomi che si osservano nella malattia: così è stato dimostrato che sarebbero dati da germi invisibili il missedema dei conigli (Sanarelli), l'affa epizootica (Löf-  
fler e Frosch), l'horse-sickness (Nocard e Mac Fadyean), la peste degli uccelli (Centanni), il vaiolo delle pecore (Borrel), la rabbia.

Però io sono d'avviso che questa dimostrazione diretta possa venire a mancare in quelle malattie in cui le lesioni macroscopiche e microscopiche che si osservano e che si considerano come caratteristiche sono dovute a germi intervenuti secondariamente, e accompagnanti sempre il virus.

Questa conclusione ricavo dai miei studi sul vaccino.

Invero si può ottenere il vaccino privo di germi visibili mediante la filtrazione attraverso adatti materiali porosi, e in tali condizioni il filtrato non produce nè la pustola nè il fenomeno del Guarnieri. Inoculato sulla cute ai cani, che sono sensibilissimi all'infezione vaccinica, questi animali si immunizzano verso la polpa vaccinica attiva.

Ora ciò mentre tende a fare ammettere che la filtrazione abbia lasciato passare i germi del vaccino, d'altro canto fa sospettare che la produzione delle pustole sia dovuta alla presenza di un altro germe che troverebbe le condizioni che ne permetterebbero lo sviluppo nella lesione cutanea provocata dal germe del vaccino. Infatti potei isolare uno stafilococco da pustole vacciniche di cani, che coltivato in anaerobiosi, in brodo di cute, riprodusse in un cane, appena inoculato con filtrato di vaccino, delle pustole non differenziabili da quelle del vaccino. Il Sanfelice del resto aveva riprodotta la pustola vaiolosa e il fenomeno del Guarnieri nell'orecchio con lo stafilococco isolato da individui vaiolosi (pustole e milza) (V. pag. 452).

Quindi io credo che quando col filtrato non si riesce ad ottenere la produzione di alcuna lesione che caratterizzi la malattia, rimane sempre da vedere se l'animale sia rimasto immunizzato con lo stesso filtrato.

Ciò premesso, i germi invisibili trovati nei vari processi morbosi si possono distinguere in due gruppi:

1° il primo dato da germi, i quali raggiungono, ma non sorpassano il limite della visibilità;

2° il secondo dato da germi ultramicroscopici, i quali sorpassano questo limite.

Nel primo gruppo si trova soltanto il *virus delle peripneumonie* dei bovini studiato da Nicolle e Adil-bey.

La sierosità diluita 20-30 volte lascia passare il germe attraverso le candele Berkefeld o Chamberland *F* (non attraverso le *B*).

La sierosità chiusa in sacchetti di collodion posti nel cavo peritoneale dei conigli dopo 15 giorni lascia veder delle granulazioni finissime mobili.

Nel brodo di Martin con il 6-8 % di siero di bue (tenuto a 38°) si formano colonie grandi quanto una testa di spillo appena visibili, colorabili con la tionina, decolorabili col Gram, le quali risulterebbero dalla riunione di finissimi granuli di forma indefinibile.

Nel secondo gruppo si trovano tutti gli altri virus, cioè:

il *virus misscedematoso*, che è il primo ad esser stato studiato e che fu scoperto dal Sanarelli (1896) in un'affezione catarrale della congiuntiva dei conigli con edema delle palpebre, dell'ano e degli organi genitali e con formazioni neoplastiche agli orecchi e alle estremità costituite da tessuto missomatoso:

il *virus dell'afte epizootica* studiato da Löföler e Frosch: la sierosità diluita in 39 parti di acqua, filtrata attraverso le candele di Berkefeld (non attraverso quelle di Kitasato) lascia passare un virus che, iniettato nelle vene delle pecore, riproduce la febbre aftosa;

il *virus della peste dei cavalli* (l'horse-sickness che si esplica con elevazione della temperatura, ansia respiratoria, ingorghi edematosi della testa, della faccia, dei polmoni, ecc.): il sangue e la sierosità, diluita 33 volte (Nocard) o non diluita (Mac Fadyean), filtrata attraverso le candele Berkefeld e le Chamberland *F* ha lasciato passare un liquido attivo. Questo germe sarebbe il più piccolo tra i conosciuti, tanto che secondo Mac Fadyean, quando è assai diluito, passerebbe anche attraverso le candele Chamberland *B*:

il *virus della peste degli uccelli* (l'entanni) o cianolofica (Gruber): il sangue e la polpa degli organi, diluiti con acqua fisiologica, lasciano passare attraverso le candele Berkefeld e le Chamberland *F* un materiale che uccide i polli. Identicamente si comporta il virus del colera dei polli (Maggiora e Valenti) e di un'affezione dei merli e dei tordi;

il *virus della peste borina*: Nicolle e Adil-bey hanno veduto che filtrando la sierosità attraverso le candele Berkefeld passa un liquido che ora è attivo ora no: lo è sempre se si adoperano candele a pareti assottigliate. Siccome poi il virus sarebbe trattenuto in tutto o in parte dalle candele Chamberland *F*, ciò ha fatto credere agli autori che si tratti di un virus endoleucocitico;

il *virus della rabbia*, che già il Pasteur sospettò fosse dato da un germe piccolissimo, si è veduto che può passare attraverso le candele Berkefeld, aiutandone il passaggio o con una modica aspirazione (non mai tale però da raggiungere 1 atmosfera) (Celli e De Blasi, Remlinger e Riffat-bey, Schüder)



o con la pressione [(che non dovrebbe essere inferiore a 2 atmosfere (Di Vestea), o a 3 (Bertarelli e Volpino)].

Le ricerche sono state fatte con virus fisso e virus di strada opportunamente pestato in un mortaio e diluito (Di Vestea) o mescolato a sabbia e pressato al torchio di Buchner (Celli e De Blasi) in modo da ottenere un liquido facilmente diluibile. Va però notato che non tutte le prove sono riuscite positive, solo alcune nei conigli (nei quali è stato possibile trasmettere il virus in serie): nei cani invece sono sempre riuscite negative;

il virus del *vaiuolo delle pecore* (Clavelée): il contenuto delle pustole sciolto in 100 emc. di acqua e diluito al millesimo e al diecimillesimo è ancora attivo se filtrato attraverso le candele Berkefeld ma non le Chamberland P: il virus dà luogo a proliferazioni epiteliali dell'epitelio bronchiale dall'aspetto di tumori adenomatosi.

Sarebbero anche, secondo alcuni, virus analoghi quelli:

1° della *febbre gialla* perchè 10 emc. di sangue diluito in 36 emc. di acqua, filtrato attraverso una candela di Berkefeld che non lasciava passare lo stafilococco piogeno aureo, avrebbe riprodotta la malattia nell'uomo in due individui inoculati con 1 emc. e mezzo di filtrato e in un terzo l'avrebbe riprodotta il sangue di uno dei primi due. Però questo esperimento non è probativo perchè risulta dalle mie esperienze che le candele che non lasciano passare lo stafilococco piogeno aureo, non vuol dire che non lascino passare altri germi visibili mobili come vibrioni, il b. del tifo, ecc. Quindi nel sangue filtrato potevano benissimo esservi delle forme batteriche grandi. Questa obbiezione è tanto più giustificata, in quanto che gli autori saggiarono l'integrità della candela con una prova di controllo *preliminare* e non *contemporanea*, cioè si accertarono prima che un filtro non lasciasse passare lo stafilococco e poi, dopo averlo sterilizzato, lo adoperarono per la filtrazione del materiale *senza mescolarvi lo stafilococco* o altro germe visibile. In tal modo veniva a mancare all'esperimento il necessario rigore, giacchè quella stessa candela, che precedentemente non aveva lasciato passare lo stafilococco, poteva benissimo, dopo la sterilizzazione, lasciar passare lo stafilococco stesso od altri germi visibili nel tempo in cui passava l'agente etiologico della malattia. D'altro canto il Sanarelli accusa gli autori di incapacità sperimentale, il che deve tenersi in conto, poichè ricerche di questo genere debbono essere condotte da persone assolutamente provette nella tecnica batteriologica.

2° del *mollusco contagioso o vaiuolo dei polli*, perchè il contenuto dei noduli diluito in acqua fisiologica e filtrato attraverso le candele Berkefeld, avrebbe riprodotta la malattia (Marx e Sticker). Ma, come si spiega allora che questo morbo potè essere riprodotto da me e dal Sanfelice con un blastomiceta? Si potrebbe emettere il sospetto che nella coltura dei blastomiceti vi fosse in un col blastomiceta, il virus, o che esso si trovasse nella cute dei piccioni innestati col blastomiceta.

O piuttosto non si tratta di due affezioni diverse? Ricorderò solo che un tempo venne identificato il vaiuolo dei polli con il mollusco contagioso del-

l'uomo mentre ulteriori ricerche hanno condotto a separare nettamente queste due malattie.

3° la *malattia del mosaico del tabacco*, la quale, secondo Beyerinck, sarebbe dovuta al così detto *contagium vicum fluidum* e che il Roux ritiene dovuta a un germe piccolissimo, tanto più che il Mayer avrebbe trovato essere infettante, il succo delle foglie malate.

Ma la speciale resistenza di questo virus che, riscaldato a 70°, ancora dopo 10 mesi è attivo, che dopo molti mesi lo è ancora, pur essendo stato tenuto in alcool a 95°, inoltre il fatto che, posto sull'agar, si diffonde nello stesso, tanto che gli strati inferiori dell'agar sono attivi anche dopo aver bagnata la superficie dell'agar con una forte soluzione di sublimato, e infine la proprietà che ha di passare attraverso a quelle candele che non lasciano passare neppure i noti germi invisibili, lasciano dubitare che non si tratti di una malattia parasitaria.

## PARTE III.

**ESAME BATTERIOLOGICO DELL'ACQUA  
DELL'ARIA E DEL SUOLO.**

## CAP. I.

## ESAME BATTERIOLOGICO DELL'ACQUA.

È un pezzo che si discute sull'importanza delle analisi chimica, batteriologica e microscopica delle acque: per dirla col Celli è da vari anni che « noi assistiamo ad una vivace lotta tra i diversi criteri da seguirsi nel giudizio di potabilità di un'acqua e che con maggiore o minore acume di critica alcuni di essi sono depressi, altri inalzati o viceversa, secondo l'indirizzo delle diverse scuole, sempre però risultando ammirevole il grande affaticarsi dell'igiene verso la difficile meta di criteri giusti e possibilmente assoluti, come dalla scienza sono richiesti ».

Gli è certo intanto che non tutti i criteri da seguirsi nello esame di un'acqua sono così divulgati come dovrebbero richiedere, perchè mentre tutti sanno fino a qual punto il criterio chimico vada applicato, il criterio batteriologico viene invece diversamente inteso e frainteso.

Esso dovrebbe servire a rivelare il numero dei germi che si trovano per cmc. di acqua, a dirci quali essi siano e, opportunamente condotto, a mettere in evidenza, ove è possibile, la esistenza di germi patogeni per l'uomo.

Con che si dovrebbe da un canto stabilire il criterio quantitativo e qualitativo dei germi comuni delle acque, criterio che in certi casi è importantissimo (per es. per saggiare il potere filtrante del terreno) e dall'altro, stabilire in gran parte il giudizio di potabilità dell'acqua.

Giova però notare che le moderne indagini sulle acque, che debbono essere adibite ad uso potabile, hanno di molto scemata l'importanza dell'esame batteriologico, inquantochè mentre da un lato il numero limite dei germi per cmc. si è riconosciuto non potersi sempre accettare, dall'altro per la diagnosi delle specie patogene i mezzi di cui si dispone sono pochi e non

sempre corrispondenti. Basterebbe pensare che dando peso al numero dei germi potrebbero venire tolte dall'uso comune acque potabilissime non contenenti che germi i più banali dell'ambiente e che, dando peso ai microrganismi isolati coi procedimenti speciali per la ricerca dei microrganismi patogeni, si potrebbero prendere, e lo sono stati pur troppo non poche volte, per tifo, per coli e per vibrioni colerici, dei similtifi, dei colisimili e dei vibrioni idrici. Nè vale rammentare che la tecnica moderna insegna in questi casi di ricorrere alla sierodiagnosi, poichè solo quella per il *b. del tifo* è alla mano. Così è che l'esame batteriologico viene dalla maggioranza ridotto a ben poca cosa e le conclusioni che si traggono dalle singole relazioni il più delle volte non pesano che poco sul giudizio di potabilità o no di un'acqua.

### Apparecchi per prelevare campioni.

Molti sono gli apparecchi che sono stati descritti per prelevare i campioni di acqua per gli esami batteriologici.

#### A) Apparecchi per prelevamenti in superficie.

1. Il metodo più semplice per prelevare un campione d'acqua superficiale è quello di immergere nell'acqua una bottiglia sterilizzata a tappo smerigliato o una boccia di Erlenmeyer chiusa con tappo di gomma. Questi recipienti vengono immersi nell'acqua con le mani, aperti orizzontalmente contro corrente se l'acqua corre, verticalmente se è stagnante e dopo che si sono riempiti, vengono richiusi o tolti fuori.

Nonostante la semplicità, questo metodo presenta il pericolo di trasportar nell'acqua germi dall'aria, per quanto si consigli di lavarsi bene le mani prima con soluzione disinfettante o poi con l'acqua stessa in punto più lontano da quello ove deve essere prelevato il campione.

Dip più non è sempre possibile, attese le condizioni del luogo, prendere il campione senza far cadere nell'acqua terra o altro, ciò che può modificare in senso erroneo il risultato dello esame batteriologico.

È ben vero che la bottiglia può calarsi nell'acqua mediante apposito apparecchio, e può staccarsi tirando in alto il tappo: ma ciò è solo possibile quando la presa sia molto superficiale, e in tal caso è meglio adoperare una comune bottiglia piuttosto delle boccie di Erlenmeyer, nelle quali i tappi di gomma divergono facilmente aderenti e non si riesce per la pressione dell'acqua soprastante a staccarli.

Le bottiglie comuni, d'altro canto, presentano l'inconveniente della difficile sterilizzazione, perchè non sempre resistono al calore, specie se sono molto grandi.

In genere perciò il batteriologo ricorre ad altri apparecchi e principalmente a quelli in cui l'acqua entra, perchè in essi in precedenza col calore è stato fatto il vuoto.

2. Una semplice pipetta tirata alla lampada o un palloncino del pari col collo tirato alla lampada, e chiuso fondendone l'estremo prima che si raffreddi, sono più volte serviti allo scopo. Si sono così costruite, per esempio, le provette Tursini (fig. 221), che sono provette a tirate alla lampada col collo fino *b* ripiegato in alto; i palloni di Pasteur a collo ripiegato e chiuso per poterlo rompere in profondità per mezzo di un filo; l'apparecchio di Selavo, descritto in tutti i trattati, consistente in una provetta a tubo ripie-

gato ad angolo e uccinato all'estremo in modo da dare passaggio a una cordicella che viene legata a un anello che si trova nel corpo della provetta, sulla quale cordicella, alla profondità voluta, si fa scivolare un peso che rompe il tubetto e permette all'acqua di entrare dentro; l'apparecchio del Mazza (fig. 222) che ha cercato di semplificare il metodo precedente servendosi di una provetta *A* (fissata ad un sostegno *B* con gli anelli *C* ed *E*) col collo tirato alla lampada e foggiato a uncino, il quale viene attaccato un peso *G* per mezzo di una catenella *H*: si fa il vuoto nell'apparecchio facendovi bollire dell'acqua, e si fonde il collo alla lampada. Alla debita profondità si dà uno strappo alla corda *D*: la molla che sta tra il peso e il sostegno si stira e il beccuccio si rompe e l'acqua entra.



fig. 221.

Siccome però questi apparecchi, oltre l'inconveniente di essere di trasporto non facile, a causa della delicatezza di certe parti, presentano l'altro di doverli rompere per potere procedere alle semine, se ne proposero altri che possedessero una parte distaccabile.

Vanno notati a questo proposito i palloncini a tappo smerigliato cavo, continuanti in un tubetto, che si chiamano comunemente palloncini Miquel, nei quali si fa bollire dell'acqua e si chiudono fondendo il tubicino alla lampada.

Per non sciupare un palloncino di Miquel si può unire al tubetto del cappuccio, altro tubetto per mezzo di un piccolo manicotto di gomma: si fa bollire acqua nell'apparecchio, e quando è quasi completamente evaporata si fonde alla lampada la estremità del tubetto aggiunto che si procura di piegare ad angolo in modo che ne riesca più facile la rottura.

Vanno citati ancora i palloni di Lepsius con tappo di gomma forato da due buchi: uno attraversato da un tubo al cui estremo, tirato alla lampada, è legato un filo: l'altro da un altro tubo che è piegato in alto per l'uscita dell'aria, essendo il pallone fissato, rovesciato, a un apposito sostegno col quale si può calare a quella profondità che si crede.

Questi apparecchi per prelevare campioni d'acqua, per quanto utili, presentano però degli svantaggi in pratica, perché occorre fare in essi il vuoto, fornirli di tubi affilati che sono soggetti a rotture, nè si possono estrarre dall'acqua chiusi: in quelli poi a cappuccio smerigliato, il vuoto non è tenuto sempre bene.

Un apparecchio che ho adottato e che potrebbe servire anche per le prese a discreta profondità consiste (fig. 223) in una bottiglia *A* di vetro sterilizzabile con una strozzatura *a* in corrispondenza del collo, entro la quale bottiglia prima di procedere alla strozzatura si introduce una pallina di vetro vuota *b* il cui diametro deve essere superiore a quello del punto strozzato della bottiglia.

Il collo è cilindrico e ad esso si adatta un tappo di gomma a doppio foro; in ognuno dei fori si introduce un tubo di vetro leggermente curvo all'infuori. In uno di questi tubi *c* si introduce un tampone di ovatta *d* legata ad un filo, il quale tampone deve occupare tutta la lunghezza del tubo; nell'altro *e* si adatta un tubicino di gomma *f*, al quale si innesta un tubetto di vetro *g* che si chiude con un piccolo tappo di ovatta.

Le parti dell'apparecchio si sterilizzano una prima volta separatamente, cioè le bottigliette nella stufa a secco, il tappo e gli annessi nella pentola



fig. 222.

di Koch: poi adattati questi ultimi alla bocchetta, si sterilizza una seconda volta tutto l'apparecchio nella pentola del Koch.

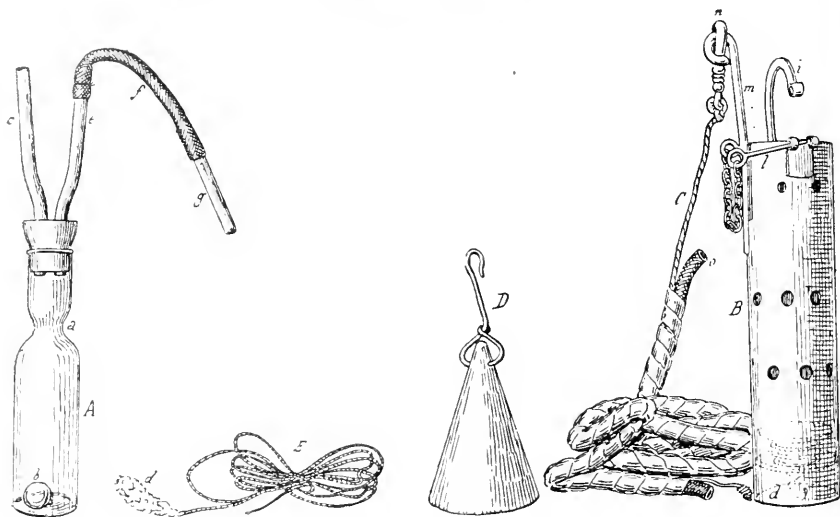


fig. 223.

Per prelevare il campione, la bocchetta così preparata si introduce entro un cilindro metallico *B* a pareti robuste, entro al quale evvi un fondo molto alto di piombo *d*, che fa da peso, al quale se ne può attaccare un altro *D*, provvisto di un occhiello.

La bocchetta poggia sopra un disco metallico fornito di una molla. All'orlo del cilindro metallico *B* è adattato un semicerchio *i* metallico mobile a cerniera da un lato e fissabile dall'altro lato a mezzo di un punteruolo *l* che scorre in una guaina adatta. Questo semicerchio si adatta al tappo di gomma facendolo passare fra i due tubi e immobilizza la bocchetta impedendo nello stesso tempo che il tappo possa distaccarsi (V. fig. 224).

Alla parete del recipiente è attaccato poi un grosso filo *m* di metallo, foggiato ad occhiello che si alza sull'orlo del cilindro di 5-6 cm. A questo occhiello si attacca la corda di sostegno *C* del recipiente per mezzo di un moschettone a molla *n*.

Alla corda è annesso, per mezzo di una fettuccia avvolta ad elice, un tubo di gomma *o* il quale in sito si innesta al tubicino di vetro *g*, che è attaccato al tubo di gomma di uno dei tubi di vetro del

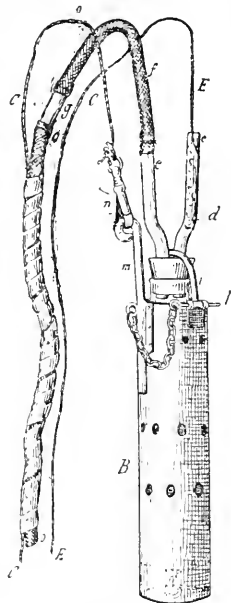


fig. 224.

tappo (levando, s' intende, il tamponcino di ovatta che vi si era posto in laboratorio).

Al momento di prelevare il campione si attacca l'altra cordicella *E*, per mezzo di un secondo moschettone a molla, al filo che è legato al tampone di ovatta introdotto entro l'altro tubo di vetro del tappo.

Si cala quindi l'apparecchio nell'acqua tenendo con la mano destra la corda *C* a cui è annesso il tubo di gomma, e con la sinistra la cordicella *E* che è attaccata al tappo di ovatta, cercando di far gravitare tutto il peso sulla prima *C* poichè è quella che sostiene l'apparecchio.

Raggiunta la profondità voluta, che non deve mai essere superiore alla lunghezza del tubo di gomma, si danno degli strappi più o meno violenti all'altra cordicella *E*, il tappo d'ovatta *d* viene così strappato e l'acqua entra dal tubo di vetro *e* rimasto privo, mentre l'aria esce dall'orifizio superiore del tubo di gomma.

La bottiglia si riempie molto rapidamente; ad ogni modo conviene tenerla immersa, specialmente se l'acqua è corrente, almeno  $\frac{1}{2}$  minuto. La pallina di vetro *b* man mano che si riempie la bottiglia si solleva e si adatta alla strozzatura del collo *a* della bottiglia stessa.

Al di sopra della medesima continua ad entrare acqua e quando si tira fuori l'apparecchio, si trova pieno anche il tubo di vetro *c*.

Per fare gli innesti si toglie il tappo con gli annessi e, nel fare questa operazione con una leggera scossa alla boccia si butta via l'acqua contenuta nel collo, al di sopra della pallina, per ovviare al presunto inconveniente che nell'estrarre la boccia sia potuta entrare qualche poco d'acqua superficiale, fatto che del resto non può succedere, poichè, caso mai, man mano che l'apparecchio si avvicina alla superficie dell'acqua, quella che si contiene nella boccia tenderà uscire e impedirà che della nuova, molto superficiale, ne entri.

Dovendo prelevare diversi campioni, si possono portare in sito varie boccie montate e sterilizzate, e l'apparecchio di sostegno prima d'essere adoperato si può immergere in un cilindro del pari metallico, che ne costituisce l'astuccio, ripieno di alcool.

Va da sè che a seconda della lunghezza del tubo di gomma l'apparecchio si può immergere a diverse profondità: generalmente però non è consigliabile di superare i 5 metri dal pelo dell'acqua.

L'operatore può però trovarsi ad una altezza molto più considerevole qualora usufruisca di una corda molto lunga: in questo caso occorre, nel calare il recipiente, tenere lontano più che sia possibile dalla corda di sostegno *C*, la cordicella *E* annessa al tampone di ovatta per ovviare all'inconveniente dell'attorcigliamento di quest'ultima intorno alla corda stessa.

Questo inconveniente non si verifica del resto che calando l'apparecchio da una altezza superiore ai 5 metri dal pelo dell'acqua: se l'attorcigliamento avviene, con un po' di pazienza si riesce sempre a colpire il momento in cui la cordicella si volge e allora con uno strappo violento il tappo di ovatta vien tolto.

Certo l'apparecchio non può servire per prelevare i campioni a grandissima profondità. Per questo scopo bisogna servirsi di altri nei quali il nu-

mero delle cordicelle non solo sia il più ridotto possibile, ma possibilmente una sola.

L'apparecchio ora descritto ha il vantaggio sugli altri di non doversi rompere per farvi entrare l'acqua e per estrarla, di non dovere fatto il vuoto, chiuderne l'orifizio alla lampada: di poter quindi servire molte volte.

I campioni prelevati possono anche non seminarsi in sito e portarsi in laboratorio, sostituendo al tappo e suoi annessi un altro tappo di gomma che si porta sterilizzato per lo scopo.

Del resto modificando opportunamente il collo della bottiglia si potrebbe anche procedere ad una chiusura alla lampada sul sito stesso; ma questa operazione la ritengo perfettamente superflua, dacchè acque che alla sorgente si sono dimostrate sterili, si sono mantenute tali, prelevate con questo apparecchio, anche portate in laboratorio.

### B) Apparecchi per prelevare i campioni a profondità rilevanti.

Sono stati consigliati molti apparecchi, i quali sono forniti di due o tre corde; ma questi, per il fatto che in profondità le corde si attorcigliano e ne rendono difficoltoso il funzionamento, non si adoperano più.

Tra di essi ad ogni modo il più indicato è l'*apparecchio di Miquel* (fig. 225-b). È un matraccio col collo tirato alla lampada ed uncinato che sterilizzato si pone in un astuccio metallico, a cui è attaccato un peso: ai bordi dell'astuccio si attaccano due corde che al disopra del collo del pallone si riuniscono in una. Al collo del pallone si attacca poi una cordicella. Quando il recipiente s'è calato in acqua ed è giunto al punto voluto, si dà uno strappo alla seconda cordicella: così si rompe il collo del pallone, nel quale entra l'acqua, perchè prima si era fatto, come nei palloni Pasteur, il vuoto.

Oggi si preferiscono però gli apparecchi forniti di una sola corda, tra i quali vanno ricordati i seguenti:

1° *Apparecchio di Russel* (fig. 225-a). — Su apposito telaio di metallo si adatta per mezzo di appositi collari e mensoleta spostabile, una provetta che può essere di diversa lunghezza, al cui orifizio si pone un tappo di gomma attraversato da un tubo piegato a squadra e chiuso alla lampada.

La parte orizzontale del tubo poggia sulla parte superiore della cornice lateralmente all'inserzione della corda di sostegno dell'apparecchio stesso.

Alla parte inferiore della cornice è attaccato un peso. Giunto l'apparecchio alla voluta profondità si fa calare lungo la corda un peso che cadendo sul tubo lo rompe e così l'acqua entra. Si può anche adoperare invece di una provetta un tubo tirato alla lampada e piegato, nel quale si sia fatto precedentemente il vuoto.

2° *Apparecchio di Praum*. — Come vaso di presa l'A. adopera un tubo da saggio che tira alla lampada, ne incurva la punta di circa 2 cm., vi fa il vuoto e lo chiude fondendone l'estremo. Come apparecchio di sostegno si serve di un comune tubo di piombo a pareti spesse, il cui bordo superiore taglia ad angoli, in maniera da poterli piegare sul recipiente di vetro, lasciando però che dal centro ne esca la punta. Nel fondo del tubo spinge un turacciolo forato. Attacca due ganci ai lati dell'apparecchio di sostegno o vi fa dei fori: vi

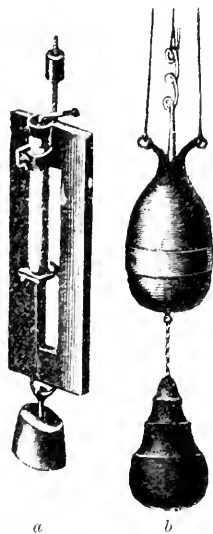


fig. 225.



introduce delle cordicelle, le quali adatta in maniera da stringere la punta del recipiente di vetro. Queste cordicelle si continuano poi in una corda che serve a calare l'apparecchio. Lungo la corda si fa scorrere un pezzo di tubo di piombo, il quale, cadendo sulla punta, si spezza. Così l'acqua entra e il campione viene prelevato.

Secondo l'A. questi apparecchi hanno diversi vantaggi: si possono allestire subito, per le loro piccole dimensioni e per il peso lieve, se ne possono portare molti in una comune scatola a mano, sono di sicuro funzionamento, si sterilizzano facilmente, costano pochissimo.

3° *Apparecchio di Fabbrì* (fig. 226). — Ad un peso conico è attaccata un'asta metallica verticale, a cui si attacca a sua volta la corda di sostegno: allo stesso è annessa un'altra asta laterale, piegata a squadra, la quale porta una mensola e una guaina scorrevoli. Entro la guaina si introduce rovesciata una provetta tirata alla lampada, in cui si è fatto il vuoto, e con l'estremo, pure piegato a squadra, che è diretto verso l'asta verticale. Si cala l'apparecchio alla profondità voluta e lungo la corda si lascia scivolare un peso, il quale colpisce il beccuccio della provetta e lo rompe. Siccome nella provetta c'è il vuoto, l'acqua entra. Per le grandi profondità funziona egregiamente, poichè si è sicuri che il tubicino si rompe.

3° *Apparecchio Casagrandi*. — Io ho usato un apparecchio che consiste di due pezzi: il recipiente per la raccolta del liquido e quello di sostegno.

Il recipiente è una bottiglia cilindrica come quella descritta a pag. 477 (V. fig. 223-A) a collo strozzato, contenente una pallina di vetro cavo. Nel collo si introduce un tappo di gomma a un solo foro nel quale si fa passare un tubo metallico (fig. 227) che nella sua parte esterna presenta due branche *a-b* di cui una *b* entra dentro al pezzo del tubo introdotto nel tappo, raggiungendone quasi l'orlo ed è più alta dell'altra.

L'apparecchio di sostegno è in ottone, costituito da un sostegno cilindrico formato da quattro aste parallele *a, b, c, d*, fissate da un disco *e*, che fa da base in basso e in alto da un altro *f* foggiato a cupola tagliata longitudinalmente in *g*. L'asta *b* è mobile per potersi introdurre entro la boccia, la quale viene tenuta a posto per mezzo di una piastraforma che si alza o abbassa sulla piastra basale *e*, a mezzo di apposite viti e molla *f* (1).

Parallelamente alla base, ad una delle aste sono fissate due aste orizzontali *m, n* lunghe quanto il diametro della piastra basale e terminanti con un occhiello piatto *o, p*.

Finalmente l'apparecchio è completato da un'ultima asta *q*, la quale si impernia su quella verticale *a*, è più lunga delle altre e termina anche essa con un occhiello *r* ma molto largo, cioè del diametro di circa due centimetri.

Quest'asta *q* non può venire in contatto con quella superiore orizzontale fissa, perchè tra l'una e l'altra è posta una molla a spirale *s*.

L'asta mobile si spinge sino al centro dell'asse del cilindro, quivi è piegata ad angolo retto in alto, e questa parte retta *t* porta un'altra asta orizzontale *u* che scorre per mezzo di apposite viti sulla verticale.

Il pezzo orizzontale *q* dell'asta mobile poggia per mezzo di un dischetto spostabile di gomma *v* sul tubetto più basso della bottiglia: il pezzo *u* che scorre sulla porzione verticale *t*, si adatta in modo da poggiare sul tubetto più alto sempre con l'intermezzo di un dischetto di gomma *w*.

Attraverso a tutti gli occhielli si fa passare una corda *z*, alla fine della quale si attacca un peso di piombo *k*.

(1) Invece di costruire così l'apparecchio di sostegno si può anche servire di un tubo metallico, come quello descritto precedentemente a cui poi si annettono le altre parti come nel presente apparecchio.

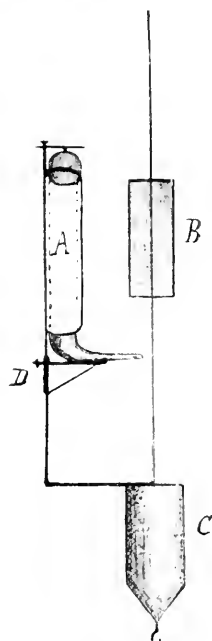


fig. 226.

Tutto l'apparecchio viene sterilizzato nella stufa di Koch, o nell'autoclave e avvolto in carta sterilizzata si porta in sito, si immerge nell'acqua a quella profondità che si crede e

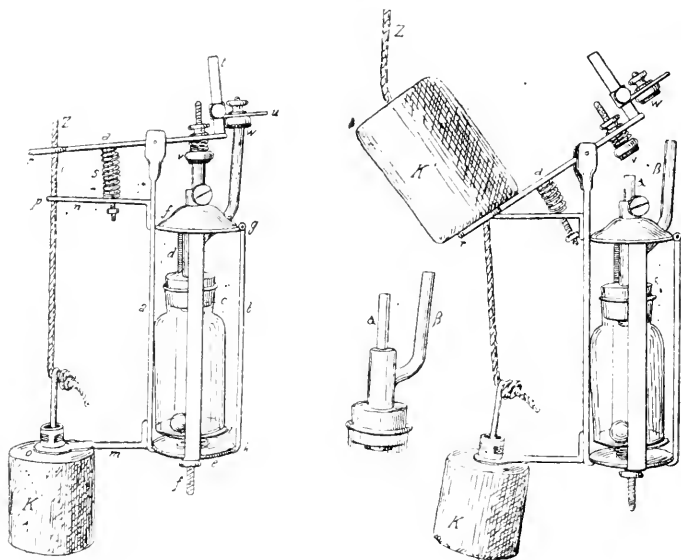


fig. 227.

sulla guida della corda si cala un peso di piombo *K* cilindrico forato nel centro. Questo poggia sull'occhiello *r* dell'asta mobile *g* e la costringe a far leva.

Allora si separano i dischetti di gomma (*v. v'*) dall'orificio dei tubetti e l'acqua entra dal più basso *z*, mentre dal più alto esce l'aria. La pallina di vetro cava si alza e quando la boccia è piena chiude gli orifici dei tubetti.

Allora non rimane che tirare su l'apparecchio, levare la bottiglia e procedere alle semine in sito levando il tappo.

### C) Recipienti per i substrati seminati.

Prelevato il campione di acqua, occorre seminarne quantità note da  $\frac{1}{10}$  di cmc. a 1 cmc., in recipienti adatti, nei quali si sia versato in precedenza o venga versato dopo, il substrato nutritivo adatto, fluidificato.



fig. 228.

A tal uopo si usavano dei tubi da saggio ordinari, in fondo ai quali si versava alquanto gelatina al brodo di vacca, che si fluidificava in sito e si innestava con l'acqua. Il tubo veniva poi disposto orizzontalmente e arrotolato in maniera da distribuire la gelatina sulla sua superficie interna. Si ottenevano così le colture arrotolate all'Esmarch che venivano specialmente bene nei tubi di Parietti (fig. 228), forniti di una strozzatura a 1 cmc. dal bordo, e le colonie che si sviluppavano nella gelatina venivano poi sottoposte alla enumerazione per mezzo di un apparecchio speciale, che è il contacolonie di Esmarch.

Oggi però questo metodo più non si adopera, perchè se nell'acqua si trovano diversi batteri fluidificanti, prima di procedere alla conta, buona parte della gelatina è fusa e perchè il numero delle colonie che si rileva con l'apparecchio non risulta mai corrispondente al numero reale.

Sono invece molto in uso le capsule del Petri (V. fig. 133-a) di cui si conoscono anche dei modelli con il fondo centimetrato (fig. 230) e altre che oltre

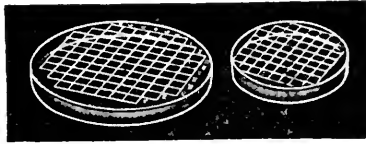


fig. 229.

fig. 230.

la divisione in quadratini, portano la numerazione orizzontale e verticale di essi, le così dette scatole di Kauffmann (fig. 229). Vi si depongono a mezzo di pipetta sterilizzata alcune gocce o meglio decimi di cmc. dell'acqua prelevata e poi successivamente si versano dentro la gelatina, che si tiene in tubi nei quali si fa naturalmente prima fondere a bagno-maria.

Per lo addietro si soleva anzi versare l'acqua nel tubo di gelatina liquefatta e poi il miscuglio si travasava nelle capsule di Petri sterilizzate, ma tale pratica è stata sostituita da quella precedentemente descritta per ovviare all'inconveniente che alcuni germi potessero rimanere attaccati alla parete della provetta e non pervenire nella capsula, inducendo così errore nella conta.

Si possono anche, per essere maggiormente sicuri che dei germi caduti dall'aria non vengano ad aggiungersi a quelli esistenti nell'acqua, usare invece delle capsule di Petri, fiaschette piatte (Kolle, Soyka), o meglio ancora le fiaschette Rozsahegyi, con una delle facce divisa da tanti quadratini di 1 cm. di lato (V. fig. 136).

In questi recipienti si pone il substrato nutritivo, per es. la gelatina, e si sterilizzano. In sito si fluidifica la gelatina e si innestano con l'acqua. Poscia si dispongono orizzontalmente sopra un piano qualsiasi fino a che il substrato sia solidificato.

### **D) Enumerazione dei germi.**

Avanti di passare alla tecnica dell'enumerazione dei germi, è bene ricordare le cause d'errore nelle quali si può incorrere. Può accadere che non si agiti l'acqua avanti di misurarla, che avvengano perdite durante la misurazione e l'introduzione dell'acqua nei tubi, che la gelatina solidifichi in istrato non uniforme, che il numero dei germi sia eccessivo e l'antagonismo batterico arresti lo sviluppo di molti, e finalmente che le colonie siano molto affollate sulla lastra.

Le colture vanno conservate nelle stesse condizioni e lontane dall'azione deleteria della luce; quelle in agar si pongono appositamente nel termostato. L'ispezione del substrato si fa quotidianamente. Come enumerazione finale si ritiene quella nella quale il numero delle colonie ha cessato di aumentare.

## NELLE COLTURE ARROTOLATE.

Si adopera il contacolonie di Esmarch (fig. 231).

La provetta si pone in una guaina di metallo che porta tre fori, uno di 1 cmq., l'altro di  $\frac{1}{4}$  di cmq. e il terzo di  $\frac{1}{8}$  di cmq. Questa guaina è fissata orizzontalmente ad un'asta fornita di una lente mobile in tutti i sensi. Se le colonie sono poche si contano, girando le varie parti del tubo, guardando attraverso il quadrato grande (se molte attraverso i quadrati piccoli), sempre servendosi della lente. Quando si è contato un certo numero di quadrati, si avvolge attorno alla provetta una carta, quanto basta per coprire la superficie della provetta; le dimensioni della carta si misurano e così si sa in cmq. quale è la superficie della provetta (\*). Allora si fa la media dei germi trovati nei quadratini contati e questa media si moltiplica per il numero dei cmq. costituenti la superficie della carta. Si ha così molto approssimativamente il numero delle colonie sviluppatesi nella provetta dall'acqua seminata.

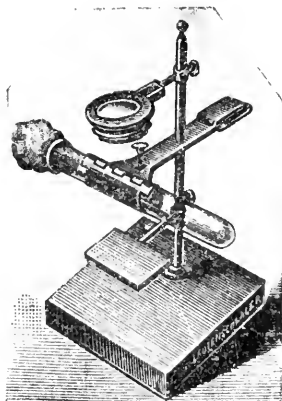


fig. 231.

NELLE PIASTRE  
E NELLE SCATOLE DI PETRI, ECC.,  
NON CENTIMETRATE.

Se le colonie sono poche, si enumerano ad una ad una; se in forte numero, si potrebbe dividere la lastra in tanti cmq. ponendola sopra una carta centimetrata. Si usano però piuttosto apparecchi speciali come quelli del Wolffhügel, dell'Heyroth.

L'apparecchio di Wolffhügel (fig. 232) consiste in una lastra di vetro centimetrata, di cui i quadratini che corrispondono alle diagonali sono divisi in 9

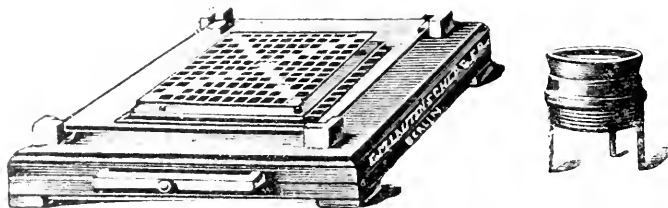


fig. 232.

parti. La lastra è posta sopra 4 sostegni, fissi sopra una tavola di legno, sulla quale poggia una lastra di vetro nero della stessa grandezza. Per far spiccar meglio le colonie, si pone la coltura tra le 2 lastre suddette, aiutandosi all'occorrenza con una lente, si enumerano le colonie contenute in parecchi cmq. scelti a caso, si calcola la loro media in 1 cmq. e poscia, enumerati che sono i cmc. rappresentanti la superficie della lastra, con breve calcolo si avrà il numero totale delle colonie e anche il numero dei germi contenuti in 1 cmq.

La superficie delle capsule del Petri, si calcola molto facilmente misurandone il diametro e calcolando la superficie in base alla nota formula  $\pi \left(\frac{d}{2}\right)^2$ . Per es. una piastra il cui diametro fosse di 10 cm. avrebbe la superficie di

$$3,14 \times \left(\frac{10 \text{ cm.}}{2}\right)^2 = 3,14 \times 5^2 = \text{cmq. } 78,50.$$

Quindi avendo enumerato le colonie per es. di 20 quadratini ed avendone fatta la media, basterà moltiplicare questo numero per la superficie trovata.

Si può anche usare per le scatole di Petri, invece dell'apparecchio Woltf-hügel originale, quello di Abba.

Questi ha sostituito la lastra graduata con una lastra circolare centimetrata nello stesso modo, che serve benissimo per le scatole di Petri grande modello. La lastra ha il diametro di 14 cm.; la superficie totale della lastra è di 154 cmq. ed è divisa in quattro quadranti da una croce rossa centrale.

Oppure si può fare la conta col metodo del La'ar ponendo sulla scatola una lastra divisa in tanti settori alla loro volta divisi in tante parti da cerchi concentrici, delle quali parti qualcuna è a sua volta divisa in parti più piccole triangolari (fig. 233).

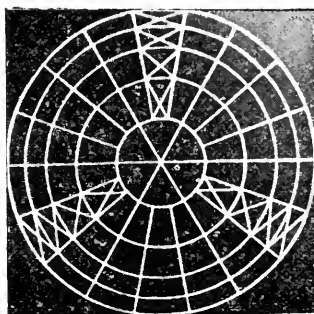


fig. 233.

L'apparecchio dell'Heyroth (fig. 234) serve bene per la enumerazione delle colonie in scatole di Petri. La scatola viene posta in un tavolino rotante, al di sopra del quale evvi un disco che porta una apertura di 1 cmq., sostituibile con una di  $\frac{1}{4}$  cmq. o di  $\frac{1}{9}$  di cmq. Essa si fa scorrere sotto questa apertura ed intanto per mezzo di apposita lente si contano le colonie.

Quando queste non siano eccessivamente numerose, al disco col quadratino se ne può sostituire uno diviso in 10 settori: la conta si fa lo stesso servendosi della lente.

Quando le colonie sono eccessivamente affollate e non si possono vedere con gli apparecchi ora descritti, si ricorre al microscopio, enumerando le colonie comprese in 20-30 campi, determinando la superficie di un campo mediante un obbiettivo micrometrico, tenendo conto dell'ingrandimento del sistema occhio obbiettivo.

Il numero dei campi contenuti in una lastra si moltiplica per la media suddetta. Quando le colonie comprese in un campo sono molto affollate, si

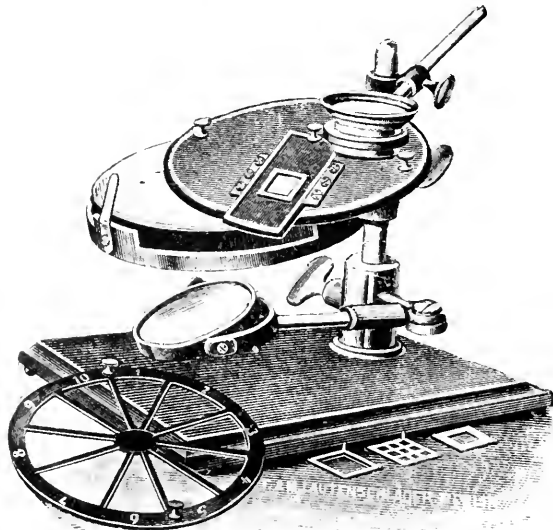


fig. 234.

può facilitarne l'enumerazione dividendo il campo in 4 settori con un filo fissato in croce sull'oculare o con una rete scalata sulla lente del medesimo.

### E) Substrati per la semina.

In quanto alla scelta dei substrati per la semina, in genere si dà la preferenza alla gelatina. Essa si fluidifica a bagno-maria a temperatura di poco superiore ai 25°, o anche direttamente alla fiamma, in caso di urgenza.

La gelatina ha anche il vantaggio di permettere, facendo la conta dei germi, la distinzione di essi in fluidificanti e non fluidificanti, ciò che è di una certa utilità pratica.

Usando altri substrati, come l'agar-agar al brodo di vacca peptonizzato, dovendo fare le semine in sito, si incorre nello inconveniente di dovere fluidificare l'agar, per cui necessita un'alta temperatura (ebollizione), nonchè in quello della sua facile solidificazione, non appena la temperatura discende sotto a 40° C.

Dippiù, dalle piastre in agar agar non si può dedurre il numero delle colonie fluidificanti e non fluidificanti.

Però in questo substrato, checchè si dica, si sviluppano maggior numero di colonie e si rende più facile la conta dei cromogeni.

Inoltre le piastre così fatte possono essere poste in termostato a temperature idonee (30°-37°) senza tema che il substrato fluidifichi e si possono

lasciare a sè anche varie settimane, poichè i germi fluidificanti non lo fluidificano, di modo che si può completare la conta anche dopo molto tempo.

Tuttavia, in genere, nonostante i vantaggi dei substrati agarizzati, per i bisogni della pratica, si è riconosciuto sufficiente l'uso dei substrati gelatinizzati per le semine in sito, specie perchè, come si sa, il numero dei germi banali non pesa gran che sul giudizio di potabilità. Ove però le semine si facciano in laboratorio, o in casi speciali si richieda una conta esatta dei germi stessi, è utile procedere anche alle semine nei substrati agarizzati, senza per altro dare la preferenza all'agar con albumosa dell'Hesse e Nieder (1), poichè come all'Abba così a noi in laboratorio non ha dato risultati superiori a quelli che dà l'agar al brodo di vacca e la stessa gelatina.

In quanto alla composizione della gelatina, l'Abba propone di generalizzare una formula semplice con la quale si otterrebbero gli stessi risultati che con la formula del Koch e nella quale si può alcalinizzare in maniera costante.

La composizione della gelatina è la seguente:

brodo conc. Liebig	gr.	6;
colla di pesce.	. . .	» 150;
acqua dist.	. . . . .	» 1000.

Per alcalinizzare si opera così: si lascia cadere sopra una lastra di porcellana bianca una goccia di soluz. alcool. al 3 % di fenoltaleina e subito dopo una goccia di gelatina: se questa rimane incolore, si aggiunge alla massa di gelatina un po' di carbonato sodico in soluz. satura, sino ad ottenere una leggerissima colorazione rossa della goccia di gelatina fatta cadere sulla goccia di fenoltaleina. Allora si misura la quantità di gelatina da alcalinizzare (a 30°) e si aggiunge  $\frac{1}{4}$  gr. di carbonato sodico in sostanza per ogni litro di gelatina (2).

### F) Cassetta di trasporto.

Finalmente, oltre alla scelta degli apparecchi per prelevare i campioni, dei recipienti per la semina e dei substrati da adoperare, bisogna procedere anche alla scelta di una adatta cassetta da trasporto, specie se si debbono portare i campioni in laboratorio.

In tal caso, nella cassetta deve trovarsi un reparto rivestito di zinco o ferro zincato, nel quale porre ghiaccio o neve e segatura, od altro sistema refrigerante per mantenere a bassa temperatura i campioni prelevati in modo da impedire in essi, durante il trasporto, la moltiplicazione dei germi.

Quando non si abbiano campioni da portare in laboratorio per la conta dei germi, nel refrigerante vanno poste le piastre di gelatina fatte in sito. Non è però necessario porvi i campioni per la ricerca dei germi patogeni e degli anaerobi, poichè con essi non si deve procedere a ricerche quantitative, ma a ricerche qualitative.

(1) La formula del terreno di Hesse e Nieder è la seguente:

Agar . . . . .	1.50
Albumosa di Heyden . . . . .	0.70
Acqua distillata . . . . .	100.

Si cuoce, si filtra attraverso ovatta, si alcalinizza e si sterilizza.

(2) Alcuni autori nel Congresso d'Igiene di Budapest hanno fatto proposte per unificare l'esame batteriologico delle acque: il Löffler ha consigliati i soliti terreni debitamente alcalinizzati (1,5 % di soda); il Grimbert una soluzione di peptone al 2 % nell'acqua distillata resa alcalina e gelatinizzata al 10-12 % (la alcalinizzazione si ottiene con soda e deve esser tale che 100 cme. di substrato siano neutralizzati dell'1,5 % di acido normale), ecc.

Nella cassetta di trasporto debbono poi trovarsi altri reparti per la lampada a spirito, il piccolo bagno-maria, le pipette sterilizzate graduate a decimi di cmc., insomma tutto il necessario per un esame batteriologico.

Può anche accadere che non basti una sola cassetta, se si debbono prelevare molti campioni e se si debbono far molte semine.

Recentemente l'Abba, per facilitare il trasporto dei campioni in laboratorio, siccome secondo l'A. in tre giorni nei campioni tenuti in ghiaccio fondente non si ha moltiplicazione di germi, ha fatto costruire una cassetta con cui è possibile il trasporto di sei campioni (fig. 235). Essa consiste di una scatola foggiate a parallelepipedo rettangolare, di legno verniciato rivestito di lamina di zinco nell'interno. Sul fondo poggia, restandone distante 2 cm., una lamina bucherellata amovibile. Sul centro si eleva una scatola di lamina con coperchio in cui si alloggiano le bottette. Il ghiaccio si pone fra la scatola centrale e le pareti della cassetta esterna; l'acqua di fusione passa per i fori del fondo e si fa uscire da un rubinetto.

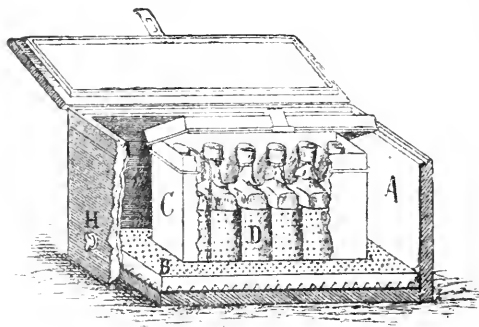


fig. 235.

In mancanza di ghiaccio il Bertarelli consiglia di adoperare una scatola cilindrica che ne contiene un'altra con vari scompartimenti non comunicanti tra di loro, in ciascuno dei quali può stare un tubo da saggio (fig. 236). Attorno alla cassetta centrale è disposto uno spazio anulare perfettamente chiuso da pareti metalliche bene stagnate, nella parte inferiore invece è posta una vite di scarico e carico a grande diametro. Per questo foro si introducono gr. 1200-1300 di solfo-ciannuro del commercio in cristalli o polverizzato e al momento della raccolta dei campioni si versa nello spazio chiuso il litro di acqua. L'apparecchio si agita dopo aver rimesso a posto la vite, e immediatamente si ottiene un forte abbassamento della temperatura nell'acqua dei tubi da saggio da 22°-24° a 0°,8 nella 1ª ora, a 3°-3,5 nella 2ª ora, a 12° dopo 8-10 ore. Il sale si può ricuperare facendo evaporare in un cristallizzatore la soluzione. L'unico inconveniente sta nella tossicità del sale; ma è inconveniente di poco conto.

### G) Apparecchi per l'incubazione delle colture.

Un altro dato di tecnica, importante da tenersi presente negli esami batteriologici delle acque, è, come giustamente fa osservare l'Abba, il sapere la temperatura a cui furono tenute le piatte e dopo quanti giorni di sviluppo si è proceduto al conteggio delle colonie.

La temperatura dovrebbe aggirarsi attorno ai 18°-19° C., se le piastre vengono fatte con gelatina; verso i 35° se vengono fatte con agar; sebbene in quest'ultimo caso sia utile tenere

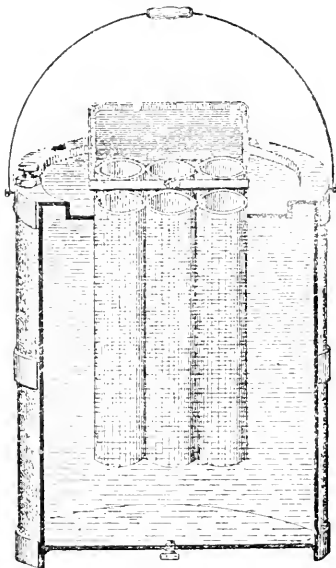


fig. 236.



alcune semine a temperature intorno ai 20° per la possibilità che alcuni batteri acquatici non si sviluppino a temperatura così alta.

L'Abba stesso per semplicizzare le ricerche ha costruito un termostato ad acqua corrente, nel quale si possono collocare 32 scatole Petri: termostato che si può tenere benissimo a 18°-19° tanto d'inverno che d'estate, seguendo le norme indicate dall'autore.

Per temperature superiori servono i comuni termostati.

In quanto alla durata dell'incubazione è precetto di prolungarla quanto più si può per contare il maggior numero di colonie, e ciò sia usando le piatte di gelatina che quelle di agar. In media, secondo Abba, nella gelatina non si può protrarre tale conta al di là di 10 e tutt'al più di 15 giorni, anche quando si sviluppano pochi germi, perchè bastano pochi fondenti per liquefare buona parte della gelatina.

In realtà la durata del periodo di incubazione è legata al numero dei fluidificanti. Qualora siano pochi si può, usando le capsule Petri, arrestare la fluidificazione con qualche cristallino di permanganato o goccia di collodion, sebbene tale pratica non sia sempre consigliabile, perchè dovendosi aprire le capsule possono cadere germi dall'aria.

Nelle piastre in agar tenute a 35° la conta si può protrarre, ove però non si sviluppino sotto forma di patine, poichè allora bisogna farla, seppur è possibile, appena dopo 2-3 giorni. In quelle tenute a 25° generalmente si può attendere sempre un tempo maggiore, spesso anche 20 giorni, ed è sempre consigliabile di attendere molto per una conta esatta.

## *H) Precetti fondamentali di tecnica.*

Dal fin qui detto si possono trarre i seguenti precetti fondamentali di tecnica.

I campioni debbono essere prelevati con apparecchi adatti secondo che la prelevazione si deve fare in superficie, a piccola o a grande profondità.

Le semine debbono farsi più presto che sia possibile dopo prelevato il campione, preferendo le semine in fiaschette piatte a quelle in scatole Petri.

Ove le condizioni di luogo mal si prestino alle semine o i campioni da prelevare siano molti, si possono trasportare i campioni in luogo adatto purchè il trasporto venga fatto in apparecchi refrigeranti.

Come terreno nutritivo si preferisca, in sito, la gelatina fatta con una formula che possa essere generalizzata per la comparazione dei risultati, per es. con quella dell'Abba; in laboratorio si pratichino anche semine in agar al brodo di vacca.

Le piatte si tengano a temperatura costante e all'oscuro: se di gelatina a 18-19°, se di agar parte a 25°, parte a 35°.

La enumerazione si faccia più tardi che sia possibile, tanto nelle piatte in gelatina quanto in quelle in agar.

## *I) Microrganismi che si ricercano con l'esame batteriologico.*

Vediamo ora quali siano i germi comuni delle acque che vanno ricercati coi metodi ordinari e quali quelli patogeni per l'uomo, che vanno ricercati con metodi speciali.

**MICROORGANISMI DELLE ACQUE CHE SI RICERCANO CON METODI COMUNI.** — I microrganismi che si ricercano nell'acqua coi comuni metodi sono schizomiceti, blastomiceti, oidi e muffe. Dei primi in genere si ricercano sole le forme aerobiche; solo in casi speciali le anaerobiche.

**SCHIZOMICETI.** — Il gruppo degli *schizomiceti delle acque* è rappresentato da una raccolta di germi che si riuniscono assieme per comodità di studio. Esso non è cioè la riunione di germi che abbiano sempre parentele tra di loro per caratteri morfologici e biologici, ma è la risultante invece della riunione di varie serie di germi appartenenti a tutti i gruppi degli schizomiceti in genere.

I vari autori che si sono occupati dello studio di queste forme, per rendere possibile la loro ricerca diagnostica, hanno applicato quegli stessi criteri che furono adottati in passato per la classificazione dei microrganismi dei vari gruppi degli schizomiceti. Si sono quindi distinti i batteri in *patogeni e non patogeni, fluidificanti e non fluidificanti, eromogeni e non eromogeni*.

Comunque però, bisogna confessarlo, qualunque sia la classificazione presa a base, la diagnosi qualitativa dei germi delle acque sarà sempre praticamente difficile e soggetta ad errori, perchè, pur troppo, i dizionari batteriologici riferiscono (salvo quello del Lehmann e Neumann che non è completo) descrizioni monche dei singoli germi, sia per il fatto che coloro che originariamente li hanno descritti si sono contentati di pochi caratteri per differenziarli, sia perchè alcuni di essi sono stati scoperti in tempi in cui troppo si credeva al solo preparato microscopico, e in seguito nessuno si è curato di tornarvi sopra.

Fondandosi essenzialmente sui caratteri delle colonie i batteri banali che sono stati trovati nelle acque (elencati dal Migula e riassunti dal Tedaldi) si possono, per comodità diagnostica, distinguere in diversi gruppi, tenendo presente: il *colorito della colonia*; la *resistenza al metodo del Gram* (quando sia stata studiata); il *potere di sporificare*; la *proprietà di fluidificare la gelatina*.

Necessariamente però, anche per giungere ad una diagnosi di specie con questi semplici dati è necessario, dopo avere rilevati i caratteri delle colonie, fare:

1° un preparato colorato con lo Ziehl per stabilire se si tratti di cocchi, batteri, ecc.;

2° un preparato colorato col metodo del Gram per vedere se resistono o no;

3° un passaggio su patate per vedere, mediante opportune colorazioni, se sporifichino o no;

4° un passaggio in gelatina a piatto o per infusione, è solo necessario quando gli innesti dell'acqua siano stati fatti in agar; quando siano fatti in gelatina è superfluo ripeterla per rilevare la proprietà di fluidificare o no.

Ciò posto, dò l'elenco dei batteri disposti secondo gli aggruppamenti ora indicati, avvertendo però che sulla proprietà di resistere o no al metodo del Gram c'è poco da fondarsi.

## FORME ROTONDE DISPOSTE A CATENA.

### Colonie BIANCHE.

#### a) resistenti al Gram, fluidificanti:

— rotonde, margine bianco, centro sericeo: *Str. albus*:

b) *resistenti al Gram, non fluidificanti*:

- biancolattee a margine netto: *Str. mesenterioides*:

c) *non resistenti al Gram, non fluidificanti*:

- puntiformi a margine netto: *Str. albicans*.

**Colonie GRIGIASTRE**, resistenti al Gram, non fluidificanti.

- rugiadiformi a margini irregolari: *Str. cinereus*;
- rugiadiformi con lunghe propagini: *Str. mirabilis*.

**Colonie ROSEE**, resistenti al Gram, non fluidificanti.

- rugiadiformi, rosee: *Str. carnea*.

**Colonie GIALLASTRE**.a) *resistenti al Gram, fluidificanti*:

- a margini granulosi e raggiati: *Str. vermiformis*:

b) *resistenti al Gram, non fluidificanti*:

- viscosi, dall'aspetto di goccioline di cera: *Str. citreus*.

## FORME ROTONDE SENZA DISPOSIZIONI SPECIALI.

**Colonie BIANCHE**.a) *resistenti al Gram, fluidificanti*:

- bianchicce, puntiformi, a margini frastagliati: *m. renauus*;
- bianche, infossate, divise in fiocchi irregolari: *m. pseudosarcina*;

b) *resistenti al Gram, non fondenti*:

- percellanee, piccole, rotonde, margini netti, superficie moriforme: *m. aquatilis*;
- biancolattee, centro scuro, margini rilevati granulosi: *m. caudicans*;
- bianco niveo a bordi irregolari granulose: *m. candidus*;
- biancolattee, rotonde, con centro oscuro, vicino ai margini bruno-splendenti: *m. cirri-formis*.

**Colonie GRIGIASTRE**.a) *resistenti al Gram, fondenti*:

- granulose, sollevate, con ramificazioni a corallo: *m. coralloides*;
- splendenti, granulose, a centro oscuro, con raggi in vari ordini alla periferia: *m. radiatus*;
- rotonde, limitate da un alone marmorizzato: *m. subviriscus*;
- feriche, rilevate con centro oscuro, periferia chiara, leggermente granulose: *m. typhoideus*;

b) *resistenti al Gram, non fondenti*:

- bianchicce, nebulose, con propagini a viticcio, che partono dal centro: *m. viticulosus*.

**Colonie BLUASTRE**.a) *resistenti al Gram, fondenti*:

- piccole, rotonde, rilevate con centro bianco-bluastro, filamento: *m. cyanus*;
- puntiformi piccole a margini netti sinuosi: *m. (urcae) liquefaciens*;
- piccole, rotonde, irregolari con alone frastagliato, eretacco: *m. subcretaceus*;
- rotonde, piccole, a margini netti con macchie serpigginose al centro: *m. aërogenus*;

b) *resistenti al Gram, non fondenti*:

- piccole, puntiformi, a margini frastagliati: *m. concentricus*;
- viscoso, madreperlaceo, a margini netti: *m. ureae*;

c) *non resistenti al Gram, non fondenti*:

- rotonde, bianche tendenti al bleu, granulose con nucleo eccentrico: *m. naccraceus*.

**Colonie GIALLE.**a) *resistenti al Gram, fondenti*:

- puntiformi, granulose, a margini netti con alone che si diffonde nell'anello di fluidificazione: *m. desidens*;
- rotonde, biancogialle, grinzose: *m. Biskra*;
- puntiformi rifrangenti a margini frastagliati: *m. ferritonus*;
- rugiadose col centro chiaro, rosa ai margini: *m. agilis (Planosarcina agilis)*;
- piccole, rotonde, granulose, giallobianche o giallobruno con disposizione eccentrica in fondo alla coppa di fluidificazione: *m. crenoides*;
- rotonde, viscoso, giallochiare, granulose con centro giallobruno e margini giallochiari, grandi al 6° giorno 3 mm: *m. luteus (Mig.) (Diplococcus luteus, b. subcaecus, planococcus luteus)*;

b) *resistenti al Gram, non fondenti*:

- appiattite, rugiadose, splendenti: *m. rosettaceus*;
- uniformi, rotondegianti, granulose, grigio-chiare: *Sarcina samesa (planosarcina samesis)*;

c) *non resistenti al Gram, non fondenti*:

- umide, viscoso, a margini irregolari, leggermente granulose: *m. luteus*;
- rotonde od ovali a margini netti, granulose, splendenti: *m. aurantiacus*;
- puntiformi a margini rilevati, finamente granulose: *m. tardigradus*.

**Colonie ROSSOCARNE.**a) *resistenti al Gram, non fondenti*:

- rotonde, splendenti, viscoso, rilevate, rossocarne con zone alternate bianche e rosso intenso: *m. sarcinoides*;

b) *non resistenti al Gram, fondenti*:

- rotonde, granulose, a margini rilevati: *m. carnicolor*.

**Colonie ROSSOCARMINIO.**a) *resistenti al Gram, fondenti*:

- puntiformi, roseo-rosse, a margini sinuosi: *m. subroseus*;
- rugiadiformi, sollevate, rossocarminio con cerchi concentrici, margine granuloso, più chiaro: *m. roseopersicinus*;

b) *resistenti al Gram, non fondenti*:

- piccole, splendenti rossocarminio-scuro, a margini netti: *m. rhodocraceus*;
- rotonde, sottili, rilevate, viscoso, grigirosa, a margini granulosi: *m. rubellus*.

**Colonie ROSSOMATTONI.**a) *resistenti al Gram, fondenti*:

- rosso mattone e poi cinabro, puntiformi a margini splendenti: *m. cinnabareus*;

b) *resistenti al Gram, non fondenti*:

- splendenti rotonde a centro rosa-chiaro, grandi sino a 2 mm.: *m. carneus*.

**Colonie VERDASTRE.**a) *resistenti al Gram, fondenti*:

- nebulose con centro oscuro irregolare (odore di cavolo): *m. chlorinus*;
- rotonde, granulose, splendenti, rilevate, gialloverdi: *m. subcitreus*;

b) *resistenti al Gram, non fondenti*:

- con centro omogeneo, margine netto e non rilevato, grandi 1 mm.: *m. uabilis*.

**Colonie GIALLOBRUNE.**a) *resistenti al Gram, fondenti*:

- rotonde, grigie e poi brunogiallo-oro, a margini frastagliati: *m. galbanatus*;

b) *resistenti al Gram, non fondenti*:

- puntiformi, madreperlacee, opache, a margini sinuosi con centro in rilievo: *m. versicolor*.

**Colonie BRUNE di cocchi, resistenti al Gram, fondenti.**

- brunochiare con struttura finamente striata; la gelatina fluidificata è bruna: *m. fuscus*.

**Colonie VIOLA di cocchi, resistenti al Gram non fondenti.**

- coniche od emisferiche: *m. violaceus*.

## FORME A BASTONCINO (BATTERI E BACILLI).

**Colonie BIANCHE di batteri non sporigeni.**a) *resistenti al Gram, fluidificanti*:

- nebulose, fatte di filamenti a spirale: *b. reticulare*;
- infossate a coppia con centro bianchiccio circondato da un anello più chiaro a margini bianchicci: *b. gracilis*;
- verdastro a centro prominente bianco e poi infossato, margini delicati dentellati, centro grinzoso che si continua nei margini zigginati pallidi: *b. fluor. mesentericum*;
- rotonde, bianche, margini sinuosi con propaggini: *b. mirabilis*;
- piccole, bianche rilevate: *b. stolanatum*;

b) *non resistenti al Gram, non fluidificanti*:

- a cerchi concentrici, bianche, a superficie a squama di tartaruga: *b. caevicida* (*b. coli immobile*);
- rotonde, secche, scabre, cupoliformi, con noduli, porcellanee: *b. margaritaceum*;
- rotonde, ovali, biancolattee e poi brunicce a margini rilevati, granulose: *b. ubiqutum*;
- rotonde, rilevate porcellanee: *b. canale*;
- piccole, bianche, granulose, con margini irregolari: *b. euniculicida*;
- puntiformi, omogenee, carnose, splendenti, bianchicce: *b. aërogenes* (*lactis aërogenes*);
- molto splendenti, pallide con zona concentrica chiara: *b. ureae*;
- a gocce di latte con margini granulosi: *b. candidans*;
- porcellanee con centro spesso grigiobianco con zona madreperlacea attorniate da una zona inerspata: *b. album* (*gasiformans*);
- rotonde, bianche, a centro oscuro circondato da 2 anelli chiari e 2 oscuri concentrici e poi da uno solo: *b. avulcarne*;
- rotonde, bianche grandi come una testa di spillo: *b. album*;

c) *non resistenti al Gram, fluidificanti* :

- nebulose con centro scuro: *b. nubilum* ;
- centro scuro, margini dentellati: *b. liquidum (b. aquatile commune)*;
- bianche, rotonde, granulose, spumose, margini frastagliati: *b. spumosum* ;
- piccole, bianche, rotonde, uniformi: *b. devorans* ;
- granulose, dentellate, solcate: *b. liquefaciens (b. vulgatum lipref.)*;
- bianche, rotonde (puzza di letamaio): *b. odorificans* ;
- nel liquido di fluidificazione fiocchi puntiformi spesso disposti a stric: *b. punctatum* ;
- rotonde, centro chiaro, margini scuri, spinosi: *b. stalattiferum* ;
- centro bianco, margini chiari, granulosi: *b. dermoides* ;
- centro chiaro, margini netti, scuri: *b. incanum* ;
- bianche con splendore oleoso, margini netti: *b. inunctum* ;
- bianco-giallastre, moriformi: *b. plicatum*.

**Colonie BIANCHE di batteri sporigeni.**a) *resistenti al Gram, fluidificanti* :

- bianco sudicie, rotonde, dentellate a margini increspati, circondate da centri concentrici :  
gelatina sottostante rammollita, verde: *b. (fluor. putidus) colloides* ;
- granulose incavate a coppa con zona periferica pallida, centro scuro granuloso (odore di frutta) *b. aromaticus (b. crassus aromaticus)* ;
- piccole, bianche, splendenti, granulose a margini irregolari (odore di salamoia di aringhe):  
*b. angulans* ;
- centro scabro increspato, margini ondulati: *b. vermicularis* ;
- dall'aspetto di muffe: *b. muscoides* ;
- bianche, puntiformi: *b. cereus* ;
- bianche, granulose, poi giallo-brune a margini rilevati da cui partono gettoni: *b. mesentericus (b. mesentericus fuscus)* ;
- bianche costituite da fili intrecciati a rete: *b. retiformis* ;

b) *resistenti al Gram, non fluidificanti* :

- bianche, disposte a spirale: *b. spiralis* ;
- bianche, con centro e uno o due cerchi concentrici scuri: *b. albuminis (putrificus)*.

**Colonie BIANCHE filamentose di batteri non sporigeni,**

resistenti al Gram, non fluidificanti.

- puntiformi, nebulose, dal centro partono filamenti intrecciatisi: *b. zoppi* ;
- dal centro partono gettoni con 1-3 ramificazioni a cavaturacciolo: *b. mirabile (Zimm)* ;
- piumose, dal centro partono numerosi reggi lunghi 3-4 cm.: *b. zeukeri* ;
- splendete, munda, filamentosa, dal centro partono rami che si dividono: *b. dendriticum* ;
- bianche da cui si partono filamenti ramificati: *b. sulfureum (proteus sulfureus)* ;
- omogenee, bianche, a margini raggiati: *b. delicatulum*.

**Colonie BIANCHE filamentose di batteri sporigeni,**

resistenti al Gram (?), fluidificanti.

- bianchiccie, dal centro partono fiocchi di filamenti, friabili (odore di urina di gatto): *b. filamentosus* ;
- a margini irregolari fascicolati infossati nella gelatina: *b. vermicularis* ;
- irregolari, granulose, margini chiari fatti di filamenti bianchi intrecciati: *b. implexus* ;
- dal centro partono filamenti bianco-grigi fatti a ciuffetti, riuniti a matassa: *b. radicosus* ;
- centro grigio da cui partono gettoni a forma di micelio: *b. ramosus* ;
- colonie bianchiccie astriformi a centro irregolare da cui partono filamenti che si intrecciano ramificandosi: *b. turgescens*.

**Colonie GRIGIE di batteri non sporigeni.**a) *non resistenti al Gram, fluidificanti* :

- grigiastre, fluidicanti a coppa, gas: *b. gasiformans* ;
- grigie, puntiformi, dentellate, circondate da una zona chiara splendente: *b. lutescens* ;

- bianco grigie, rotonde, a superficie rilevata: *b. ranicida* (*hydrophilus fuscus*).
- grigie, splendenti, simili a quelle dello streptococco dell'erisipela: *b. salmonicida*;
- centro grigio, margini circondati da una zona bruna da cui partono raggi: *b. canum* (*b. glaucus*);

b) *non resistenti al Gram, non fluidificanti*:

- bianco-grigie, rotonde, viscoso, dall'aspetto di grappolo: *b. zürmianum*;
- viscoso, pallide, splendenti, grigie, a margini ondulati con centro più infossato da cui partono gettoni che vanno nella zona marginale: *b. villosum*.

**Colonie GRIGIE di batteri sporigeni.**

a) *resistenti al Gram, fluidificanti*:

- grigio-bianche, a contorni irregolari, granulose specialmente al centro, a margini scolorati: *b. filiformis*;

b) *resistenti al Gram, non fluidificanti*:

- grigie, rotonde, a margini irregolari, granulose, con centro sollevato iridescente: *b. viscosus* Mlg. (*lactis viscosus* Adam.);
- grigie granulose, margini irregolari: *b. trambusti*;
- grigio-giallastre con tre cerchi concentrici, di cui l'esterno dentellato: *b. piscicidus*.

**Colonie GRIGIE di batteri non sporigeni, resistenti al Gram, fluidificanti.**

- grigie, non omogenee, granulose, rugiolose, solcate da striscie: *b. vermiculosum*;
- a cote, granulose con periferia grigia e centro rosso: *b. kiliense*.

**Colonie BLUASTRE di batteri non sporigeni.**

a) *resistenti al Gram, fluidificanti*:

- puntiformi, come fiocchi nebulosi, grigio-bluastre, con centro giallo-oro da cui partono filamenti ramificati: *b. arborescens* (Frank);
- piane un po' rilevate, granulose, a margini dentellati, solcate, color bleu-acciaio (resiste al Gram): *b. caeruleum*.

b) *resistenti al Gram, non fluidificanti*:

- puntiformi, bianco-bluastre, rugiolose, rilevate al centro: *b. azureum*;
- irregolari, sinuose, di splendore madreperlaceo simili a quelle del b. del tifo, pigmento al centro: *b. berlinense*;
- rotonde biancobluastre con una macchia gialla centrale, granulose, a margini striati: *b. polymorfum*;
- opalescenti con centro compatto, margini irregolari granulose: *b. profusum*.

**Colonie BLUASTRE di batteri sporigeni.**

a) *resistenti al Gram (?), fluidificanti*:

- grigio-bluastre, raggiadiformi, margini scolorati irregolari: *b. guttatus*;

b) *resistenti al Gram (?), non fluidificanti*:

- irregolari, bianco-bluastre a centro rilevato, a margini grinzosi, trasparenti, ondulati, striati: *b. aquatilis sulcatus*;
- colonie puntiformi splendenti bianco-bluastre, reniformi, a margini sinuosi: *b. reniformis*.

**Colonie BLUASTRE di germi non sporigeni.**

a) *non resistenti al Gram, fluidificanti*:

- bianco-grigio-bluastre con centro bianco da cui partono filamenti radiceiformi stellati (ifonici) *b. pseudoradiatum*;

- iridescenti, dall'aspetto di covoni di grano che partono come raggi dal centro: *b. arborescens*;
  - bleu rotondeggianti: *b. coeruleum*;
  - grigio-bleuastre, infossate a coppa: *b. vulgare (proteus vulgaris)*.
- b) *non resistenti al Gram, non fluidificanti*:
- a forma di foglia di felce, con splendore madreperlaceo: *b. fluor, non liquefaciens*;
  - espanse, bleuastre, centro chiaro, non granulose, margini rilevati scuri; dal centro partono granuli, alone iridescente: *b. indigoferum*;
  - sottili, bleuastre, centro bianco, poi giallo e solcate: *b. aquatile*;
  - rotonde, sferiche, bianco-bleuastre, ziggrinate, centro ombelicato: *b. umbilicatum*.

#### Colonie GIALLE di batteri non sporigeni.

- a) *resistenti al Gram, non fluidificanti*:
- simili a musco, striate, venate, margini sfrangiati, rugiadose, umide, madreperlacee, porcellanee, giallicie a luce obliqua, fluorescenti (bleu verde) a luce diretta: *b. (fluor.) album*;
  - granulose, gialle, grandi quanto una testa di spillo: *b. flavescens*;
- b) *resistenti al Gram, fluidificanti*:
- centro oscuro granuloso, margine filamentoso, poi giallo-opache con alone: *b. hyalinum*;
  - gialle, alla periferia giallo-chiare, raggriate: *b. pseudoaquatile (b. aquatile)*;
  - gialle, cupoliformi, hernoocolute, dentellate: *b. rhenanum*;
  - rotonde, punteggiate con centro giallo e periferia grigia, alone a sciame bleu o grigio: *b. graveolens (b. aquatile graveolens)*;
  - aggruppate, piccole, gialle, circondate da una zona trasparente: *b. berlinense (roterb. (Fränkel), b. ruber berol.)*;
  - gialle, granulose, a margini frastagliati, con alone viscoso giallo-oro: *b. tremelloides*.

#### Colonie GIALLE di batteri sporigeni.

- a) *resistenti al Gram, fluidificanti*:
- centro giallo, rotondeggianti: *b. vulgatus (b. mesentericus vulgatus)*;
  - squamose, iridescenti, con centro giallo e zona marginale iridescente e zone di fluidificazione: *b. iris o iridens*;
- b) *non resistenti al Gram, non fluidificanti*:
- gialle, frastagliate, squamose, poi stellate: *b. stellatus*;

#### Colonie GIALLE di batteri non sporigeni, non resistenti al Gram, non fluidificanti.

- irregolari, espanse, viscoso, granulose, gialle, d'aspetto zooglico: *b. luteum*;
- disciformi, centro spesso bianco, margini dentellati, poi solcate, gialle: *b. subcoecoidium*;
- spesso, bianche, non frastagliate, centro giallo, periferia bianca, zona marginale gialla: *b. subsulcatum*.

#### Colonie GIALLOPALLIDE di batteri non sporigeni.

- a) *resistenti al Gram, fluidificanti*:
- giallochiare, rotonde, fluidificanti a coppa, granulose, dentellate a centro più scuro: *b. ochraceum*;
  - disciformi, giallopallide, membranose, a margini sfrangiati, incavate a coppa, alonate: *b. (aquatile) villosum*;
  - ovali, giallobianche, nebulose, pieghettate, a margini con eminenze frondose: *b. pseudo-felicinum*;
  - rotonde, giallobianche, con centro finamente ramificato circondato da un'ombra: *b. citrinum*;
  - emisferiche, bianco-giallastre, allungate, moriformi: *b. plicatum*;



b) *resistenti al Gram, non fluidificanti:*

- bianco-gialle e poi giallogrigie splendenti, sollevate, granulose: *b. minutum*;
- giallo-pallide simili a un covone di spighe: *b. pseudomirabile* (Mig.).

**Colonie GIALLO PALLIDE di batteri non sporigeni.**a) *non resistenti al Gram, fluidificanti:*

- giallobianche, dal centro partono ramificazioni poco estese: *b. arborescens*;
- giallo-pallide, granulose; il colore va degradando verso i margini, che sono sinuosi: *b. hyanthinum*;
- rugiadosa, giallochiara, infossate, bruno-scure a luce obliqua, a margini irregolari: *b. helveticum*;

b) *non resistenti al Gram, non fluidificanti:*

- rugiadosa, giallo-bianche, convessa, con splendore madreperlaceo, granulose: *b. subflavum*.

**Colonie GIALLO PALLIDE di batteri sporigeni, resistenti al Gram, fluidificanti.**

- giallo-bianche con centro giallo, periferia raggiata: *b. toxosus*;
- giallopallide con contorni iridescenti: dopo qualche giorno centro grigio-bleu con cerchi concentrici: *b. gracilis*;
- puntiformi, biancogiallicce e poi giallo-verdi, rotonde senza protuberanze ai bordi, galleggianti sulla gelatina: *b. aërophilus*.

**Colonie GIALLO BLEU di batteri non sporigeni,  
non resistenti al Gram, fluidificanti.**

- giallo-bleu, centro scuro, zona intermedia splendente, margini scuri: *b. cloacae*.

**Colonie GIALLO VERDI di batteri sporigeni (?)**, resistenti al Gram (?), fluidificanti.

- puntiformi, giallo-verdi: *b. flavoviridis*;

**Colonie GIALLO VERDI di batteri non sporigeni,  
non resistenti al Gram, fluidificanti.**

- bianche, moriformi, fluidificanti a coppa, circondate da una zona di fluidificazione giallo-verde, granulose: *b. fluorescens (liquefacens) (nivalis)*.

**Colonie GIALLO ORO di batteri non sporigeni.**a) *non resistenti al Gram, non fluidificanti:*

- puntiformi, grandi come teste di spillo, gialloarancio-pallido, granulose, a margini dentellati: *b. aureus*;
- aranciate, puntiformi: *b. aureum*;
- piccole, rotonde, giallo-zolfo, più scure al centro, granulose: *b. flavococcineum*;
- puntiformi, granulose, giallo-oro splendenti: *b. chryseum (Goldgelberb.)*.

b) *resistenti al Gram, non fluidificanti:*

- granulose, dentellate, splendenti, color giallo- Napoli: *b. constrictum*;
- steriche, giallo-umide, piccole, splendenti, a margini regolari, con centro più sottile: *b. (fluor.) aureum*;
- puntiformi, a testa di spillo, color arancio, granulose, rilevate: *b. aurantiacum*.

**Colonie GIALLO BRUNE di batteri non sporigeni.**a) *resistenti al Gram, non fluidificanti:*

- rotonde, dentellate, splendenti, centro giallo-scuro, granuloso, periferia grigia, sottile: *b. griseum*;

- piccole, giallobrunne, gibbose, a margini dentellati, splendenti: *b. fuscum*;
- irregolari, giallobrunne, a margini dentellati, sollevate, a contenuto reticolato: *b. halans*;

b) *resistenti al Gram, fluidificanti*:

- dischiiformi, bianche o giallochiare, granulose, a centro infossato, giallobruno, circondate da 2-3 cerchi, contorni giallochiari dentellati: *b. maidis* (?);
- rotonde, solcate, sinuose, poi omogenee, centro opaco, giallo bruno, margini chiari: *b. subterfiale*;

b) *resistenti al Gram, non fluidificanti*:

- giallobrunne, granulose, a margini prima netti poi frastagliati, da cui si originano colonie figlie: *b. naeraceum*.

**Colonie GIALLO BRUVE di batteri sporigeni.**

a) *resistenti al Gram, fluidificanti*:

- giallobrunne e poi grigio-bluastr: *b. disciformis*;

b) *non resistenti al Gram, fluidificanti*:

- dischiiformi, giallobrunne, infossate a coppa: *b. mucosus*;
- giallobrunne con centro viola, granulose, a margini sinuosi: *b. lividus*;

c) *non resistenti al Gram, non fluidificanti*:

- giallosecure, granulose con protuberanze ai margini che danno alle colonie l'aspetto di acari (fluidificate sembrano gocce color giallo-oro): *b. multipedunculus*.

**Colonie VIOLACEE di batteri non sporigeni.**

a) *resistenti al Gram (?) fluidificanti*:

- granulose, centro puntiforme, violetto, margine raggiato, alone fluidificato torbido: *b. laurentiae*;
- infossate, viola: *b. memb. amethi, mobilis*;

b) *non resistenti al Gram, fluidificanti*:

- Viola scuro, margini dentellati: *b. amethystinum (b. membranaceus)*;
- incavate, grigio-blen poi viola-pallide, zona marginale radiata: *b. violaceum*.

**Colonie VIOLACEE di batteri sporigeni, resistenti al Gram, fluidificanti.**

- granulose, raggiate, viola: *b. violaceus*.

**Colonie ROSSE di batteri non sporigeni.**

a) *resistenti al Gram (?), fluidificanti*:

- a centro oscuro, circondato da cerchi chiari e scuri, a margini scolorati e granulosi: *b. carneum*;
- gialle e substrato colorato in rossoscuro: *b. erythrogenes (lactis erythrogenes) (b. rosfluorescivens)*;
- rotonde, granulose, rilevate, rossicce: *b. rubidum*;
- a disco, infossate in un ampio alone di fluidificazione granulare, grigio-rosse: *b. prodigiosum*;
- piccole, rotonde, dentellate, simili a quelle del *b. prodigioso*: *b. indicum (ruber)*;
- puntiformi, granulose, con centro rosso lampone, a margini grigi: fluidificandosi la gelatina il pigmento si diffonde ovunque: *b. foxium* (rosso di Lustig);

b) *non resistenti al Gram, fluidificanti*:

- sottili, gialloblue, a centro rosso-coralacea, a margini scolorati dentellati, rilevati: *b. miniaceum*;

c) *non resistenti al Gram (?), non fluidificanti :*

- rosso-bruno, centro circondato da alone (rapido sviluppo) : *b. subrubiginosum* ;
- giallo-rosso-oro splendenti, nucleo giallo a forma di biscotto con zona periferica giallorossa, reniforme, punteggiata, a margini grinzosi, nebulosi : *b. alutaceum* (*Ledergelberb.*) ;
- rosso-gialle, circondate da una zona rossa a forma di cappuccio con nucleo trasparente bruno-chiaro e a margini giallo-rossoscuri : *b. resinaceum* (*Hayfarbenerb.*) ;
- rotonde, a linee grigie, tendenti al rosso : *b. rubefaciens* ;
- zone rossogialle con centro più pallido, a margini dentellati, granulose : *b. erythromixa* (*rodococcus erythr., micr. erythr.*) ;
- da puntiformi a 2 mm., rilevate, secche, splendenti, rosso-cinabro-scuro, a margine chiaro, poco granulose : *b. rubrum* ;
- puntiformi, rotonde, rossomattone, granulose, con centro più scuro dei margini : *b. latericeum*.

**Colonie ROSSE di batteri sporigeni.**a) *resistenti al Gram (?), fluidificanti :*

- bianco rosa, margini dentellati con gettoni che si approfondano nel terreno : *b. subtilis* ;
- rotonde, rosapallide, a margini ripiegati, con centro piano, giallorosse punteggiate e alone bianco, d'aspetto moriforme : *b. rosaceus metalloides* ;

b) *non resistenti al Gram (?), fluidificanti :*

- granulose, rotonde, a margini lisci, fluidificanti a coppa : *b. pseudoruber* ;

c) *non resistenti al Gram, non fluidificanti :*

- rossiccie, rotonde, granulose, con centro più scuro e margini più chiari : *b. kermesinus* (*Karmiroterb.*) ;

**Colonie VERDI di batteri non sporigeni.**a) *resistenti al Gram (?), fluidificanti :*

- gialloverdi, rilevate, splendenti, rotonde, esili, pallide, dentellate : *b. turcosum* ;
- a centro giallo moriforme, a margini sinuosi verdebianchi con alone chiaro omogeneo : *b. chlorinum* (*grünelberb.*) ;
- giallo-grigie, granulose, con centro più scuro : *b. fulvum* ;
- grigiogialle a centro non limitato, periferia granulosa con fini filamenti, fluidificanti a coppa : *b. liquefaciens* ;
- piccole, rotonde, giallogrigie, con centro puntiforme, circondato da alone grigio, granuloso : *b. coronatum* ;

b) *resistenti al Gram, non fluidificanti :*

- piccole, giallogrigie, poi giallo-oro granulate : *b. chrysofloca* ;

c) *non resistenti al Gram (?), fluidificanti :*

- grigio-gialle, centro più scuro, circondato da un anello grigiastro, granulose : *b. centrale*.
- granulose, centro rosso, margini lisci, granulosi, granulosi, verdastri : *b. plymouthense* ;
- piccole, rotonde, grigie o plumbee, granulose, con strie raggiate dal centro : *b. plumbeum* ;
- rilevate, granulose, verdastre : liquido fluidificato verdastro ; gelatina verdastra : *b. rividans* ;
- verlastre, granulose con centro più scuro : *b. chlorinum* (?) ;
- lisce, granulose, a margini sfrangiati, da cui partono gettoni con alone di fluidificazione fluorescente grigio, gelatina verde : *b. viscosum* ;
- dischiforme, lisce, mammellonate, a contorni ondulati sinuosi (fluorescenti dopo 8 giorni) : *b. chlorophena* ;
- sottili, verdi bleu, granulose, dentellate : *b. diffusum* ;
- d) *non resistenti al Gram (?), non fluidificanti :*
- nebulose, iridescenti, madreperlacee e poi giallo-verdi, a margini frangiati netti (aspetto di carta geografica in superficie) : *b. (fluor.) longum* ;

- sottili, splendenti, rotonde, a margini dentellati, raggiati, gelatina verde: *b. (fluor.) tenue*;
- verde-lucenti, a centro più scuro, a margini dentellati, trasparenti (odore di salamoia di aringhe): *b. (fluor.) putidum*;
- colonie bianche con centro verde, viscoso, trasparenti, con fluorescenza verde: *b. capsulatum* (Mig.);
- quadrate (?), giallo-verdi, a margini frastagliati: *b. mascheki* (*blaugrauerb.*);
- grosse, granulose, verde-pallido, a margini dentellati: *b. scissum*;
- discoidi, sottili ai margini, spesse al centro, da cui parte un sistema di solchi incrociantsi: *b. sulcatum*.

#### Colonie VERDI di batteri sporigeni.

##### a) resistenti al Gram, fluidificanti:

- piccole, rotonde, verdastre, filamentose: fluidificate assumono l'aspetto di nebbia: *b. aureus* (*subaureus*);
- giallo-verdi, galleggianti sulla gelatina fluidificata: *b. aërophilus*;

##### b) resistenti al Gram (?), non fluidificanti:

- rotonde, bianche, con centro verde, periferia granulosa quasi trasparente: gelatina con fluorescenza verde: *b. macroselmis* (*b. fluor. putidus*);
- bianchiccie, simili a quella del *b.* del tifo, gelatina fluorescente: *b. erythrosporus*.

#### Colonie BRUNE di batteri non sporigeni.

##### a) non resistenti al Gram, fluidificanti:

- rotonde, bianche e poi brune, granulose, con centro incavato e margini rilevati, da cui partono numerosi gettoni: *b. brunneum*;
- irregolari, rilevate, bruniccie, con centro infossato e masse nebulose nell'alone di fluidificazione: *b. cuticularis*;
- con centro bruno e ciuffi giallo-bruni, chiari all'estremità: *b. aquatice*;

##### b) resistenti al Gram, fluidificanti:

- grigio-brune, granulose: *b. annulatum*;

##### c) non resistenti al Gram, non fluidificanti:

- bruno-grigiastre, granulose, con centro opaco e margini chiari splendenti, dentellati: *b. septicum* (*seidenglänzenderb.*);
- rotonde od ovali, rugiadose, porcellanee, brunicce: *b. rubescens*.

#### Colonie BRUNE di batteri sporigeni.

##### a) non resistenti al Gram, fluidificanti:

- rugiadose, grigie, con sostanza colorante bruna, viscida, a margini rotondeggianti: *b. brunneus*;
- brune e poi giallobruno: *b. subcuticularis*;

##### b) resistenti al Gram, fluidificanti:

- brunastre, granulose, a margini dentellati (aspetto microscopico della corrente protoplasmatica): *b. circulans*.

### FORME CURVE (VIBRIONI, SPIRILLI E SPIROCHETI).

Delle forme curve banali trovate nelle acque, non accade mai di dover fare la diagnosi di specie: basta rilevarne la presenza in genere. Credo quindi inutile darne l'elenco particolare. In ogni caso rimando ai relativi capitoli della parte II (pag. 443-448).

### FORME RAMIFICATE (STREPTOTRICEE).

Le colonie delle streptotriccee si riconoscono facilmente (V. pag. 328): ove si volesse fare la diagnosi delle singole specie, che del resto non ha alcuna importanza, necessita special-

mente tenere presente il colorito della colonia, il quale in genere assume una tonalità definitiva solo dopo molto tempo, e compare specialmente bene chiaro nelle colture su patate (V. pag. 330).

**BLASTOMICETI.** — I blastomiceti che possono trovarsi nelle acque non sono stati finora oggetto di studio particolare: in genere si trova un blastomiceta a cellule ovalari non cronogeno, che si denomina *fermento bianco* (fermento ellissoideo); un blastomiceta rotondo che produce un pigmento roseo e si identifica col *saccharomyces roseus*.

Da uno studio da me fatto su qualche blastomiceta che ho isolato dall'acqua per mezzo di un terreno di coltura speciale acido-glucosato (V. pag. 255) mi risulterebbe però che vari possono essere quelli che accade trovare nelle acque: tra i bianchi ve ne hanno a cellule rotonde, ovali, ellissoidee; tra i pigmentati si possono trovare anche altri produttori un pigmento diverso dal roseo, per es. il *sacc. niger* e il *sacc. ruber*: però sono sempre molto rari.

In ogni caso la diagnosi differenziale non porta nessun vantaggio per le conclusioni sull'esame dell'acqua, e quindi non giova insistere su ulteriori dettagli. Basta dire se si tratta di un *blastomiceta bianco* a cellule rotonde, ellittiche, a bodino (*sacc. pastorianus?*), a pera o limone (*sacc. apiculatus?*), di un *blastomiceta rosa*, rosso, di un *blastomiceta nero*. Per queste diagnosi necessita fare un preparato a fresco del contenuto della colonia, tenendo presente, si comprende, il colore di essa.

**OIDIOMICETI.** — Gli oidi nell'acqua sembra siano rari. Io mi sono incontrato con qualche esemplare soltanto alcune volte. Per differenziarli dai blastomiceti occorre fare un innesto in brodo, perché in esso si troveranno cellule rotonde o ellissoidee gemmanti, che ricordano i blastomiceti, e le forme filamentose ifiche che ricordano gli ifomiceti.

**IFOMICETI.** — Gli ifomiceti che si possono trovare nell'acqua sono quelli dell'aria e quelli del terreno.

Per lo esame dell'acqua non pesa però in alcun modo la diagnosi della specie, bastando indicare il numero delle colonie di muffe: come quindi per i blastomiceti e gli oidomiceti non importa entrare in ulteriori dettagli.

Ad ogni modo, ove si credesse necessario, per giungervi è opportuno tener presente una qualunque delle classificazioni indicate dai botanici.

Soltanto aggiungerò che spesso accade di credere che nell'acqua si siano trovate molte muffe quando non ve ne erano che poche, e ciò per difetto di tecnica. Nel corrente anno in questo Istituto si è visto difatti diminuire grandemente il numero delle muffe negli stessi campioni di acqua, innestando l'acqua in fiaschette con entro la gelatina invece che in capsule di Petri, in cui occorre versare poi la gelatina scoprendole più o meno.

Le muffe più comuni sono i *mucor*, gli *asperigilli* e i *penicilli*.

LE MUCORINEE appartengono ai ficomiceti (1) o funghi a tallo unicellulare che si sepimentano quando si moltiplicano, formando i così detti *ifi*, al cui estremo si formano gli organi di vita duratura o spore, le quali sono racchiuse in apposite dilatazioni dell'ifo, dette *sporangii*. Si moltiplicano però anche per zigospore.

Le forme più comuni sono:

il *mucor mucedo*, i cui ifi non ramificati portano uno sporangio molto grande (100-200  $\mu$ ) giallastro o grigiobrunastro con riflessi a volte verdi, nel cui interno fa prominenza una parte dell'ifo (*columnella*) di colorito giallo-arancio: le spore sono cilindriche;

il *mucor racemosus*, i cui ifi sono ramificati a rami corti, che terminano in piccoli sporangii grandi 20-70  $\mu$ , giallastri o giallobrunastri, in cui si spinge una piccola columnella incolore: le spore sono globulose o leggermente ovoidi;

il *mucor corymbifer* o *ramosus*, i cui ifi grossi e bianchi sono ramificati e terminano ciascuno con uno o più sporangii incolori, piriformi, grandi 45-70  $\mu$ , spesso forniti di un collaretto basale: la columnella è emisferica, piccola, liscia o mammellonata, grigia o brunastra: le spore sono ovoidi, lisce e piccolissime;

(1) I botanici hanno fatto diverse classificazioni dei funghi inferiori (Euomiceti). Tanto per intenderci ricorderò che questi sono stati distinti in Ficomiceti e Micomiceti e che i primi alla loro volta si sono suddivisi in Zigomiceti ed Oomiceti. Ai Zigomiceti appartengono le *mucorinee*. Ai Micomiceti appartengono gli Asomiceti che tra le altre forme racchiudono le *asperigillee*.

il *mucor stolonifer* o *rhizopus nigricans* (a cui si può riportare il *m. niger*), i cui ifi grossi riuniti a tasci nodulati hanno una parete bruna e un contenuto incolore e portano uno sporangio emistrico grande da 100 a 350  $\mu$ , bianco quando è giovane, nero quando è adulto, con una columella larga, grande, emisferica: le spore sono rotonde od ovoidi e piccole (7-16  $\mu$ ): esse rimangono di sovente sopra la columella quando si rompe lo sporangio;

il *mucor rhizopodiiformis* o *rhizopus coluii*, i cui ifi isolati o fascicolati, contorti, bianchi o grigi portano uno sporangio bianco globuloso, grande 60-110  $\mu$ : la columella è ovoido o piriforme: le spore sono piccole (5-6  $\mu$ ).

Altre forme di *mucor* sono pure state descritte, come il *septatus*, il *parasiticus*: ma nell'acqua non si trovano.

LE ASPERGILLEE appartengono ai *micomiceti* o funghi a micelio pluricellulare, che si riproducono per spore esogene (basidiomiceti) ed endogene (ascomiceti). Le spore esogene si trovano all'estremità degli ifi aerei o fruttiferi su terminazioni speciali dette *basidi*: le endospore sono contenute in otricelli detti *aschi*.

Alle aspergillee appartengono anche i penicilli.

Gli *aspergilli* sono funghi ad ifi aerei bene sviluppati, il cui estremo si dilata a vescicola, sulla quale si impiantano dei corpiccioli più o meno allungati, i così detti sterinni in uno o più ordini: questi a loro volta portano le spore in serie catenulari (donde l'aspetto di *Asperges*) che hanno diverso colorito (le spore sono quelle che danno la tonalità di colore alla colonia: i miceli mai o quasi mai: essi sono sempre biancastri o bianchi).

Le forme principali sono:

*Aspergillus glaucus* o *erotium herbariorum*, con spore di colorito verde:

*Aspergillus*, o *erotium niger*, o *sterigmatocistis antacustica*, con spore di colorito nero:

*Aspergillus flavus*, o *monilia aurea*, con spore di colorito giallastro con diverse tonalità giallo-oro, giallo-verde, giallo-oliva;

*Aspergillus fumigatus*, con spore di colorito verdastro o bluastrò o grigio.

Vi sono poi altri *aspergilli*, ma meno importanti e che non si trovano nell'acqua, come il *repens*, molto simile al *glaucus*: il *malignus*, che probabilmente è quello che comunemente si intende col nome di *albus*: il *nidulans*, del pari incolore o grigio-bruno, ecc.

Ai *penicilli* infine appartengono quei funghi a micelio bene sviluppato con conidi che si impiantano su ifi ramificati (verticillati) a pennello.

Le forme più comuni sono:

il *pen. glaucum* con spore di colorito verde, tra cui ve ne sarebbe una forma molto tossica (V. pagine 90-91): al penicillo glauco si riportano ordinariamente anche altri penicilli, come il *digitatum*:

il *pen. griseum* con spore di colorito grigio, cui si riportano il *radiatum*, il *plicatum*, ecc.

il *pen. bicolor* a micelio di colorito giallastro, ad ifi verdastri, ecc.

**MICROORGANISMI CHE SI RICERCANO NELLE ACQUE CON PROCEDIMENTI SPECIALI.** — Stabilito il numero e le specie dei fluidificanti cromogeni e non cromogeni e dei non fluidificanti cromogeni e non cromogeni, occorre, per completare l'esame batteriologico dell'acqua, procedere alla ricerca dei germi patogeni per l'uomo, la quale in genere si limita al *b. coli*, al *b. typhi*, al *b. dysentericum*, al *c. cholerae*, a qualche anaerobio come il *b. del tetano*, perchè si crede di possedere dei metodi speciali, se non specifici, per la loro ricerca. Gli altri del resto è difficile si trovino nell'acqua, e in ogni caso non sono germi che possano essere causa di infezioni intestinali.

È però necessario oramai aggiungere anche la ricerca delle forme similpatogene perchè ve n'è qualcuna che in condizioni speciali può divenire patogena (similitifi per es.).

Per esser sicuri di poter mettere in evidenza questi germi si è consigliato di seminare piccole quantità di acqua negli adatti substrati, di filtrarne un certo numero di litri attraverso candele porose e seminare il materiale che rimane sulla candela, oppure di aggiungere all'acqua una sostanza inerte che precipitando trascini in fondo i batteri, o finalmente di servirsi della centrifugazione. Ma nella pratica tutti questi procedimenti sono poco applicabili e quindi non si adottano che in casi speciali.

Piuttosto sarebbe sempre da aggiungersi all'esame dell'acqua, quello dei materiali aderenti alle opere di presa o di condotta (pellicole, sabbie, ecc.), perchè, come abbiamo potuto dimostrare, quivi esistono sempre colonie numerose di batteri, che costituiscono una flora ignorata anche in acque poco ricche di germi, e a torto finora non presa in considerazione.

Alla ricerca del *b. coli* si è attribuita grande importanza, perchè la sua presenza nell'acqua si credeva stesamente in rapporto con la immissione in essa di rifiuti animali. Però oggidì, essendo noto che questo germe è straordinariamente diffuso in natura, la sua ricerca è molto diminuita di importanza. L'Abba, al quale si deve l'aver reso facile l'isolamento di tale germe dalle acque, ritiene infatti che difficilmente si possa trovare un'acqua che non lo contenga.

Va però notato che lo studio accurato del germe isolato come *b. coli* dall'acqua col metodo dell'Abba va fatto, perchè con questo mezzo non è sempre detto si isoli sino da principio il *b. coli*. Evvi, per es., un *b. viscosum* delle acque col quale mi sono incontrato più volte, che decolora rapidamente il brodo lattofenoltaleinizzato, e che produce sulle piastre di agar patine e colonie dapprima simili a quelle del coli. Per differenziarlo occorre fare infissioni in gelatina, la quale viene fluidificata e si tinge di un giallo fluorescente. Però l'averlo isolato col metodo Abba per il coli, con grande rapidità, l'ottenere nei trapianti in agar patine come quelle del coli, l'essere tardo nel fluidificare e nel pigmentare la gelatina, possono farlo confondere col coli ove non si proceda a uno studio completo, morfologico e culturale, del germe, specie in primo tempo. Vi sono del resto altri germi che possono decolorare il brodo di Abba. Tra questi germi vanno notati il *b. vulgare*, il *micr. liquefaciens*, alcuni batteri gassogeni, somigliantissimi al coli, ma differenziabili perchè posseggono la facoltà di fluidificare la gelatina, alcuni similissimi gassogeni o colisimili.

In alcuni casi, anche senza ricorrere allo isolamento del *b. coli*, alcuni consigliano di procedere alla così detta *prova biologica*, inoculando cioè 0,3-05 cme. di acqua residua dalla filtrazione alla candela di vari litri, negli animali (cavie, conigli) per 100 gr. di animale, isolando poi dal sito di inoculazione o dagli organi (se l'animale viene a morire) i germi e sottomettendoli ad uno studio accurato per giungere alla loro diagnosi. (Oltre al coli si sarebbero così trovati anche lo streptococco, lo stafilococco, il piocianeo, il *b. del tifo*).

In quanto alla ricerca del *b. del tifo*, alcuni sono ricorsi a semine dell'acqua in terreni solidi, altri in terreni liquidi (V. pag. 385).

Il procedimento più in voga per ricercarlo dalle acque è quello del Parietti, consistente nel seminare diverse quantità dell'acqua nei brodi fenicoeloidrici e nel procedere all'isolamento di quei germi che, tenendo i brodi a 37°-41°, si sviluppano in 1-8 giorni. Il microrganismo isolato per essere identificato col bacillo di Eberth, oltre ad avere tutti i caratteri morfologici di quest'ultimo, non deve essere gassogeno, non deve coagulare il latte, e deve venire agglutinato dal siero di individui tifosi o di animali immunizzati verso il vero bacillo di Eberth (V. pag. 387).

Però il metodo Parietti non è un metodo specifico. L'esperienza ha infatti dimostrato che numerosi germi dell'acqua si sviluppano a 41° in 1-8 giorni intorbidando i brodi Parietti, come il b. del tifo. Nè sempre vale far seguire all'innesto nei Parietti, quello in terreni solidi speciali come l'Elsner, il Minkowski, il Piorkowski, il Remy, come ho già fatto rilevare a proposito del valore da darsi ai substrati colturali per la ricerca del b. di Eberth, poichè non si tratta di terreni nei quali propriamente solo il b. del tifo, e con caratteri peculiari morfologici, si sviluppi.

Il Cambier aveva consigliato il seguente procedimento. Si introduce in una candela Chamberland F il brodo di sua composizione (V. pag. 254) e la si immerge in 20 cmc. dello stesso entro apposito recipiente. Si filtra quindi una quantità piuttosto grande dell'acqua da esaminare e un po' del sedimento s'introduce nella candela. Dopo 24 h nel liquido esterno passerebbe il b. tifo prima degli altri germi. Se il brodo è povero di soda e di sale, tale passaggio avverrebbe rapidamente: però è meglio che sia più alcalino e più salato, perchè, secondo l'A., pur essendo ritardato il passaggio del b. del tifo, verrebbe impedito quello del b. coli.

In quanto ad altri procedimenti (Chantemesse, Però, ecc.). V. Esame del suolo, pag. 520.

Per la ricerca del *vibrione colerigeno*, aggiungendo all'acqua (V. pag. 442) un po' di peptone e di cloruro sodico, si attende in breve ora la formazione di una pellicola in superficie. Con questo metodo si vengono però a isolare non solo il vibrione del colera, ma anche altri vibrioni, i quali possono essere patogeni per le cavie.

Va anche notato che l'acqua salata peptonizzata non è un mezzo colturale specifico per i vibrioni: vi si possono sviluppare i protei e germi affini come il *b. liquefaciens putidum album*, il *b. liquefaciens* nel termine di 12-15 ore: l'intorbidamento è però sempre molto maggiore, la pellicola più spessa, l'odore della coltura è quello della putrefazione.

Il *b. dysentericum* si ricerca con gli stessi procedimenti che servono per l'isolamento del b. di Eberth. Bisogna però porre molta attenzione alle colonie che si sviluppano nelle piatte in agar: il germe isolato deve avere tutti i caratteri elencati a pag. 406.

Per la ricerca degli *anaerobi patogeni*, si possono fare colture in anaerobiosi, servendosi dei metodi di isolamento di questi germi del suolo indicati a pag. 424 per il *b. dell'edema maligno*, a pag. 429 per il *b. del carbonchio sintomatico*, a pag. 434 per il *b. del tetano*. È però meglio filtrare l'acqua attraverso ad una candela (può servire il mio apparecchio per l'esame microscopico dell'acqua), raccogliere ciò che rimane sul filtro e inocularlo negli animali suscettibili, ecc.

Finalmente quanto alla ricerca delle *forme simipatogene* si procede ad essa coi metodi comuni: una volta isolate è necessario poter escludere si tratti di forme che possano trasformarsi nelle patogenie vere. Ciò accade per i b. simil-tifi e per i vibrioni colerasimili.

Per i simil-tifi si procede all'innesto nel terreno di Rothberger, dopo averli passati da animale ad animale (cavie) e coltivati in condizioni di anaerobiosi, magari nei prodotti solubili ed insolubili del bacillo di Eberth vero. Se nel terreno si sviluppano senza dare fluorescenza, è da sospettarsi si tratti di b. di Eberth: la prova sicura però si può avere solo se vengono agglutinati specificamente da siero agglutinante il b. di Eberth.

Per i similcoleri non rimane che ricorrere alla prova di Pfeiffer, servendosi però del siero di cavie femmine gravide, nelle quali l'immunizzazione sia stata spinta sino a che il siero del latte agglutini il vibrione del colera, ossia di cavie iperimmunizzate.



### L) Considerazioni sui risultati degli esami d'acque.

1° *Sull'esame quantitativo.* — Una volta si dava grande importanza al numero dei germi per cmc. Oggi però essa è di molto diminuita. Certo sarebbe desiderabile che un'acqua fosse sterile almeno alla sorgente; ma nella pratica è assai difficile incontrarsi in questo caso. Le acque condottate poi, anche se sterili alla sorgente, all'arrivo in città sono più o meno ricche di germi.

Noi abbiamo fatto notare (Celli, Casagrandi, Bajardi) che le più pure acque potabili sorgive, quando vengono condotte, mostrano irregolari e talvolta assai ampie oscillazioni del numero dei batteri, le quali vengono troppo spesso considerate come l'indice di alterazione e perfino di corruzione delle sorgenti, quando anche non si mettano a dirittura in rapporto con epidemie di tifoide. Invece le cause delle suddette oscillazioni batteriche sono da ricercare piuttosto nell'interno delle opere di presa e degli acquedotti.

Difatti, studiando questa quistione in riguardo all'acqua Marcia, abbiamo potuto dimostrare i seguenti fatti:

Nella parete interna delle murature, e in genere delle *opere di presa*, nelle parti cioè che sono in comunicazione più o meno libera coll'ambiente esterno, si formano pellicole o vegetazioni batteriche: queste si riducono al minimo dove le opere di presa sono più moderne e più semplici, o dove si può accumulare al fondo la fine sabbia detritica delle rocce: le dette pellicole o sabbie distaccandosi, o, comunque mescolandosi alla corrente, ne accrescono la dotazione batterica, e questo può essere già una delle cause delle oscillazioni dei batteri nell'acqua, com'è la ragione per cui i batteri medesimi vi si trovano distribuiti non uniformemente e spesso a colonie o zooglee.

Le vegetazioni batteriche suddette sono assai rigogliose anche lungo la parete interna degli *acquedotti in muratura*, tantochè alla periferia si trovano, di solito, più batteri che al centro della corrente, e basta elevare il livello del pelo d'acqua per vedervi crescere in proporzione il numero dei batteri.

Questa può essere un'altra causa delle oscillazioni batteriche suddette. E un'altra causa simile, lungo gli acquedotti a pelo libero, può essere l'aspirazione di aria esterna, polverosa, come avviene negli sfiatatoi, nei sottopassaggi a sifone e così via.

Nelle *condotture di ghisa* o a pressione, la flora batterica non varia per solito neanche per un lungo percorso di 27 km. Ma dovunque si produce un arresto o un punto morto della corrente, come presso le *saracinesche*, i *robinetti misuratori* e i *serbatoi*, ivi si accumula una sabbia dovuta in parte allo sgretolamento insensibile delle rocce interne delle sorgenti, in parte all'azione dei composti gassosi dell'acqua sul ferro delle opere di presa e di condotta: questa sabbia è il luogo di arresto e forse anche di cultura dei batteri, per cui quando si viene a rimescolare coll'acqua, non solo più o meno la intorbida, ma vi fa crescere il numero dei batteri. Questi intorbidamenti, specie se avvengono in tempi di pioggia, fanno nascere falsi allarmi di corruzione e inquinamento dell'acqua alle sorgenti e lungo gli acquedotti.

Ad ogni modo un'acqua che contenga alle sorgenti varie centinaia di germi deve sempre destare sospetto, come quella che ha un bacino imbrifero poco protetto: bisogna ricordare che una buona acqua potabile tutt'al più dovrebbe dar sviluppo a pochi batteri, rappresentati da pochi cromogeni, nelle piatte in gelatina.

2° *Sull'esame qualitativo.* — Questo sino a un certo punto distinguendo le specie fluidificanti, cromogene e non cromogene.

gli ifo- e i blastomiceti, precisa meglio se l'acqua venga o no in contatto con l'aria e se lo strato filtrante filtri bene o male. Si sa infatti che i blastomiceti, gli ifomiceti, i cocchi e in genere gli schizomiceti eromogeni provengono dall'aria, i bacilli (aerobi e anaerobi) e le altre forme schizomicetiche provengono dal suolo.

L'esame diretto poi alla ricerca delle specie patogene per l'uomo, se conduce ad un risultato positivo, esso solo pesa sul giudizio di potabilità dell'acqua. Quando però il risultato sia negativo, non ha valore assoluto dal punto di vista della potabilità, poichè non bisogna dimenticare che è difficile mettere in evidenza le specie patogene.

Finalmente lo studio delle forme similpatogene serve, non foss' altro, a togliere il dubbio dell'esistenza di germi che possano divenire patogeni, ed è un corollario dello esame batteriologico che, al giorno d'oggi, io ritengo assolutamente necessario.

Ciò posto, con quali criteri si deve giudicare un'acqua batteriologicamente dannosa? La risposta concreta affatica ancora la mente degli igienisti; teoricamente però deve risponderci che un'acqua è batteriologicamente da condannarsi quando contiene o può contenere i germi specifici di una data malattia o i prodotti di ricambio di specie per sè stesse innocue, i quali, ingeriti quotidianamente, potrebbero riuscire dannosi direttamente o predisporre a malattie infettive.

Non può accordarsi una grande importanza al *numero dei saprofiti* anche superiore al limite di circa 500 germi per cmc. (1), tranne il caso dello esame metodico dell'acqua di filtrazione attraverso filtri di sabbia o attraverso un terreno permeabile. In questi casi uno straordinario aumento del numero dei batteri indica che il filtro in qualche punto più non funziona.

(1) È noto che il numero limite massimo ha oscillato a seconda degli autori da 50 a 1000, cioè:

Secondo Flüggé . . . . .	da	50 a	200
» i chimici analisti svizzeri . . . . .			150
» Emmerich e Trillich . . . . .			200
» C. Franchel . . . . .			250
» Gärtner . . . . .			500
» Miquel . . . . .	da	100 a	1000

Secondo Miquel poi si sarebbe potuto giudicare della bontà dell'acqua dal numero dei germi (1):

Acqua eccessivamente pura . . . . .	da	0 a	10
» purissima . . . . .	»	10 »	100
» pura . . . . .	»	100 »	1000
» mediocre . . . . .	»	1000 »	10.000
» impura . . . . .	»	10.000 »	100.000
» impurissima . . . . .	»	100.000 »	1.000.000

L'aumento improvviso di germi in seguito a piogge non deve senz'altro spiegarsi con una insufficienza del potere filtrante degli strati geologici soprastanti, potendo in alcuni casi aumentare il numero dei germi per un sollevamento di quelli depositati al fondo della sorgente, per un'improvvisa moltiplicazione, come succede ordinariamente al rinnovarsi del substrato nel quale vivono i batteri.

Invece bisogna tener conto della possibilità o no d'inquinamenti, rifiutando a priori un'acqua superficiale non filtrata e cercando di decidere se le acque superficiali o le profonde di pozzi e di sorgenti siano o no soggette ad inquinamenti.

Quali sono questi altri criteri per decidere se un'acqua sia o no batteriologicamente inquinabile? Questi sono dati da forti oscillazioni della flora microbica (dimostrate mediante ripetuti esami praticati in epoche diverse e possibilmente per circa un anno), dalla presenza in forte numero di batteri non propri delle acque potabili, e comuni invece ai terreni inquinati.

Favorisce il giudizio un'inchiesta epidemiologica per stabilire se l'acqua possa essere messa in rapporto con qualche malattia infettiva.

Coadiuvati quindi all'occorrenza da persone competenti si deve fare lo studio delle condizioni topografico-geologiche, petrografiche della sorgente, del pozzo, rilevando la struttura e il potere filtrante e la flora microbica degli strati circostanti; bisogna informarsi esattamente della possibilità d'inquinamenti, delle eventuali variazioni quantitative e qualitative riguardanti i vari caratteri organolettici: colore, limpidezza, sapore, odore, temperatura, ecc., che possono osservarsi durante la siccità, o susseguire a prolungate piogge, istituendo all'occorrenza adatte ricerche per assicurarsi del potere filtrante degli strati col versare grandi quantità di colture di adatti batteri cromogeni (prodigioso) per ricercarli poscia nell'acqua, ecc.

## CAP. II.

### ESAME BATTERIOLOGICO DELL'ARIA.

L'esame batteriologico dell'aria si pratica per stabilire il numero dei germi che si contengono in un metro cubo di aria, o in un suo multiplo; nonchè per stabilire le specie di questi germi, massime per ricercare se vi si trovino dei germi patogeni.

Praticato sull'aria atmosferica libera, non ci rivela altro che il numero assoluto e relativo delle varie specie di saprofiti costi-

tuenti la flora aerea molto fluttuante, rappresentata generalmente da schizo-blasto- ed ifomiceti, primeggiando tra questi ultimi le forme coccacee, specialmente cromogene e le sporigene, essendo invece rare le forme bacillari asporigene e rarissime le curve. La presenza maggiore o minore nell'aria di questa o quell'altra specie batterica è regolata dalla diffusione delle specie stesse in natura e dalla loro resistenza al disseccamento; mentre il numero assoluto dei germi sta in relazione colla lontananza maggiore o minore dal suolo (l'aria è più pura sulle montagne, sul mare e sui laghi), è regolato anche dalla siccità e dalle piogge, dai venti e dalla calma, aumentando nel primo caso e diminuendo nel secondo. Generalmente l'aria atmosferica *in media* parrebbe contenesse più di 5 germi per litro.

Praticato sull'aria confinata può servire anche a vedere se vi si trovino in sospensione germi patogeni.

**TECNICA.** — Per procedere all'esame batteriologico dell'aria si usano diversi procedimenti:

#### 1° per mezzo degli aeroscopi.

Per l'addietro, quando ancora si confondeva l'esame microscopico col batteriologico, si adoperavano i cosiddetti *aeroscopi*. Uno di essi è quello del Pouchet. È costituito da un grosso cilindro di vetro chiuso agli estremi: entro questo tubo si mette un vetrino portaoggetti spalmato di una soluzione glicerica o zuccherata. In corrispondenza del portoggetti sono due fori: al superiore di essi si mette un imbuto e all'inferiore si applica un tubo che si mette in comunicazione con una pompa aspirante. Per l'azione di quest'ultima, l'aria passa per l'imbuto e il pulviscolo si deposita sul vetrino, che dopo vario tempo viene rimosso ed esaminato.

Quello di Miquel è un cilindro metallico, alla cui parte superiore, foggjata a cupola, è innestato un tubo che si mette in comunicazione con una pompa. Dentro il cilindro è avvitato un cono, al cui estremo forato corrisponde una lastrina di vetro che viene spalmata di una soluzione glicerica o zuccherata e che, per mezzo di una vite, si allontana o si avvicina al foro del cono.

#### 2° per mezzo delle colture in gelatina.

Allorquando dall'esame microscopico si separò quello batteriologico, si sostituirono a questi procedimenti le ricerche culturali.

Per primo il Koch adoperò un bicchiere alto 18 cm. e largo 6, nel fondo del quale si trova una capsula contenente gelatina, che si può estrarre mediante una lastra di ottone per essere fluidificata e versata al momento opportuno nel bicchiere. Si espone così all'aria per un certo tempo il recipiente e si conta poi il numero delle colonie sviluppatesi. Si comprende facilmente l'imperfezione di questo metodo, il quale non ci fa giudicare esattamente il volume di aria nel quale si trovavano i germi e presenta anche altri inconvenienti che qui è inutile di rilevare.

Hesse lo perfezionò, adoperando un tubo di vetro contenente gelatina, chiuso da due tappi di gomma a cui sono innestati due tubi più piccoli. Uno di essi è lasciato pervio all'entrata dell'aria, l'altro è messo in comunicazione con un aspiratore. Conoscendo la capacità dell'aspiratore, è facile stabilire quant'aria passi nel cilindro in un dato tempo e dal numero delle colonie sviluppatesi stabilire il numero dei germi contenuti in un determinato volume d'aria.

Anche questo metodo, che è molto più perfezionato di quello di Koch, offre moltissimi inconvenienti, fra cui specialmente quello di permettere lo sviluppo dei germi solo nella parte di gelatina ch'è vicina alla pompa di aspirazione,

Il Panlowski lo modificò costruendo il cilindro con diverse ripiegature nelle quali poneva la gelatina, e facendo l'aspirazione nel centro del cilindro stesso, in modo che l'aria pervenisse da entrambi gli estremi.

Però anche con questo metodo molti germi non cadono sulla gelatina, venendo asportati dalla corrente nell'aria aspirata.

### 3° per mezzo del gorgogliamento dell'aria in gelatina fluida.

METODO DI STRAUSS E WURTZ (fig. 237). — Essi adoperano un cilindro di vetro lungo circa 30 cm. col fondo foggiato a ditale e l'estremità superiore terminante in una tubatura nella quale si fissa a smeriglio una pipetta che pesca nel ditale. Il tubo è in alto lateralmente provvisto di un tubicino strozzato nel mezzo. Per adoperarlo, si provvede di un tappo di ovatta l'estremità della pipetta e così pure il tubicino laterale, uno sopra ed uno sotto alla strozzatura. Si sterilizza l'apparecchio nella stufa a secco, vi si versano, togliendo previamente la pipetta, rapidamente 20 cmc. di gelatina, si rimette la pipetta e si pone l'apparecchio per 10' nella stufa a vapore. Ciò fatto si porta sul luogo, si chiudono se è necessario le aperture dell'ambiente, porte e finestre, si fissa l'apparecchio ad un adatto sostegno, se ne fluidifica la gelatina mediante un bagnomaria, mantenendola poscia alla temperatura di circa 25° per tutta la durata dell'operazione. Si pone la tubulatura laterale, togliendone avanti il tappo esterno, in comunicazione con un aspiratore ad acqua che si fa funzionare a rendone i rubinetti.

Il gorgogliamento della gelatina indicherà il funzionare dell'apparecchio. Si impedirà il soverchio spumeggiare della gelatina, che salendo potrebbe bagnare i tappi d'ovatta, o regolando l'aspiratore o previa l'aggiunta di qualche goccia d'olio. Aspirati che si sono da 50 a 200 litri, secondo la quantità di germi contenuti nell'aria, si toglie l'apparecchio, si richiudono le due aperture, s'immerge nel ghiaccio e poscia si trasporta al laboratorio. Si fluidifica la gelatina, la si aspira per 3-4 volte nella pipetta per raccogliere i germi aderenti eventualmente alla sua parete interna, e poscia se ne allestiscono 4-5 colture piatte in capsule del Petri. Per evitare qualunque perdita di germi, si versano 10 cmc. di gelatina sterilizzata nell'interno dell'apparecchio, lavandone con la medesima ben bene la superficie interna, per allestire infine una lastra arrotolata, usufruendo dell'apparecchio stesso. Per l'enumerazione e lo studio delle colonie, si procede come si è descritto più sopra a proposito dell'acqua. Con questo metodo per altro non si può dare un'idea esatta della flora aerea, perchè molti microrganismi, tra i quali i più importanti patogeni, non si sviluppano in gelatina. Dippiù può condurre a risultati erronei, perchè quando l'operazione si protrae a lungo, si deve mantenere la gelatina a bagnomaria, e quindi i germi vi si possono moltiplicare.

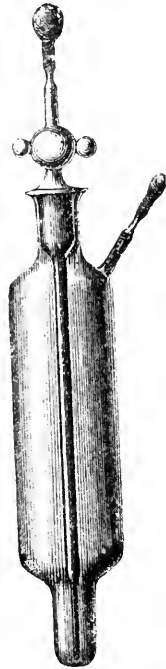


fig. 237.

METODO DI FORSTETTER. — Il Forstetter per togliere alcuni inconvenienti, adoperò un apparecchio speciale chiamato *microbiometro* e composto da un tubo piegato ad U, a cui fa seguito un'ampolla comunicante con un tubo da saggio rigonfio al fondo per contenere una certa quantità di gelatina. Si versano nel tubo ad U 10 cmc. di acqua distillata, e nell'altro tubo 15 cmc. di gelatina nutritiva al 12%. Dopo fatta passare in questo apparecchio una certa quantità d'aria, che è costretta a passare attraverso l'acqua, ed a depositarvi i germi, si fa fondere la gelatina, e si fa girare l'apparecchio in modo che acqua e gelatina si mescolino insieme nell'ampolla. Fatto ciò si piega lo strumento in senso opposto, e si versa la gelatina entro le scatole di Petri.

In tal modo, addizionando alle colonie sviluppate nelle scatole quelle che si sviluppano nella gelatina che resta aderente alla superficie interna dell'apparecchio, si ha il numero totale dei germi contenuti in un dato volume di aria.

È questo un apparecchio, che ha vari difetti: anche esso permette la moltiplicazione dei germi quando si protrae a lungo l'operazione; dippiù, se le bolle d'aria sono grandi, molti sono i germi che sfuggono.

È per questo che si sono ideati dispositivi, come quelli di Miquel ed Emmerich, coi quali si rondono le bolle più piccole: ma si tratta di apparecchi così incomodi, che reputo inutile parlarne.

## 4° per mezzo del gorgogliamento in un liquido inerte.

METODO SANFELICE (fig. 238). — Per impedire questa moltiplicazione dei germi, si pensò di sostituire alla gelatina un liquido inerte nel quale i germi non si sviluppavano.

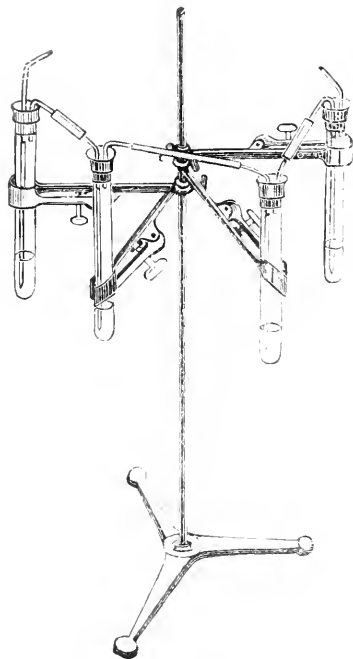


fig. 238.

Il Sanfelice trovò che a questo scopo si presta la glicerina al 5 per cento. Egli perciò adoperò un certo numero di provette chiuse ciascuna con un tappo di gomma a doppio foro, in uno dei quali innestò un tubo che giungeva sino al fondo della provetta e nell'altro un tubo corto che si arrestava poco al di sotto del tappo. Un'altezza di queste provette congiungendo uno dei tubi corti con uno dei lunghi e fece l'aspirazione unendo l'aspiratore col tubo corto dell'ultima provetta. L'aria entra per il tubo lungo della prima, gorgogliando nel liquido posto nelle provette. Dal volume dell'aria aspirata dall'aspiratore, viene calcolata l'aria che passa nelle provette. Prelevando quantità determinate del liquido e innestandolo negli adatti substrati nutritivi, si viene poi a conoscere con un semplice calcolo il numero dei germi contenuti in un dato volume d'aria.

## 5° per mezzo della filtrazione attraverso materiali solidi:

## a) costituiti da sostanze insolubili.

METODO PETRI. — Questi filtra l'aria attraverso sabbia fina, con granuli della grandezza di 0,5-1 mm. contenuta in un apparecchio (fig. 239-a) che si compone di un tubo di vetro lungo 10 cm. e largo 1,5 nel quale s'introducono 2 strati di sabbia tenuti in posto da cappucci di tela metallica sottile. Di questi cappucci esistono due nel centro del cilindro, ed uno in ciascuna sua estremità.

Sterilizzata e messa a posto nell'apparecchio la sabbia, si fa l'aspirazione dell'aria nel cilindro, e dopo aver fatto passare nel cilindro una data quantità di aria, che si misura con apposita pompa di aspirazione, si distribuisce la sabbia entro scatole di Petri, nelle quali poi si versa la gelatina. La pompa di aspirazione (fig. 240) è costituita

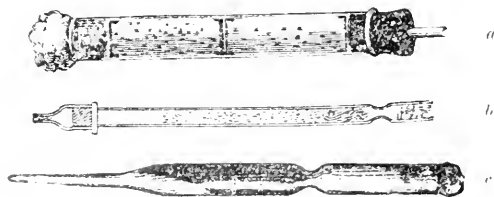


fig. 239.

da una comune pompa aspirante, il cui stantuffo vien mosso da una ruota e i cui giri vengono contati da un contatore automatico. Dal numero dei giri, conoscendo la capacità del corpo di pompa, si può benissimo calcolare la quantità d'aria che durante l'operazione ha attraversato il cilindro. Si può del resto intercalare tra il filtro e la pompa un contatore a gas.

Seminando la sabbia nelle capsule accade però che i granelli di sabbia possono scambiarsi con colonie, ed ostacolarne la conta: perciò alla sabbia il Frankland sostituì la lana di vetro, e l'Uffelmann il vetro pesto.

b) *costituiti da sostanze solubili.*

**METODO PASTEUR (?).** — Si fonde e si polverizza del solfato di sodio (Pasteur usava il fulmicotone che poi scioglieva con ctere) e si pone in un tubo (fig. 239-e) fornito di una strozzatura contro la quale è adattato un po' d'amianto per trattenerne la polvere. Si chiude uno degli estremi alla lampada e l'altro, al di là della strozzatura, si chiude con ovatta. Si sterilizza a secco. In sito si toglie l'ovatta, si attacca da questo lato il tubo all'apparecchio di aspirazione, poi si rompe l'estremo affilato alla lampada e si aspira l'aria.

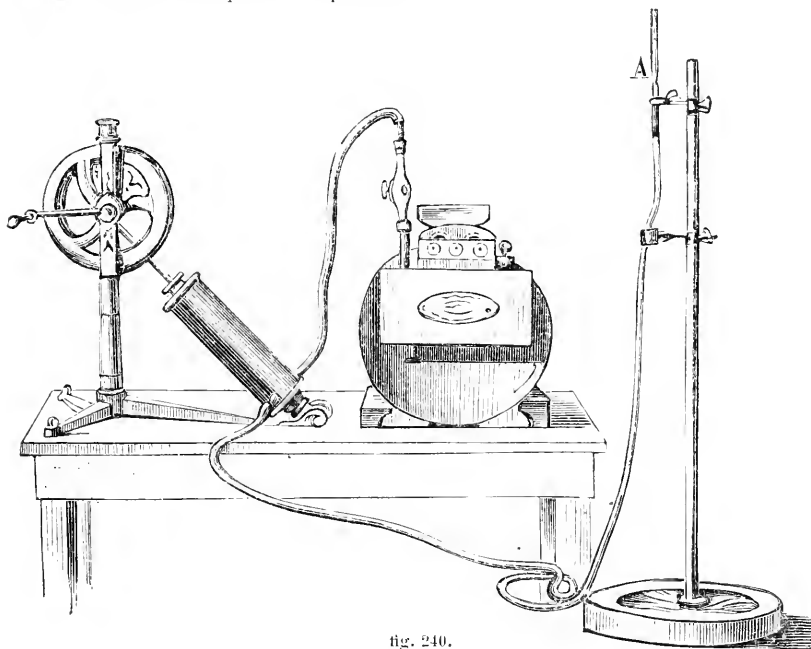


fig. 240.

**METODO MIQUEL.** — Questi adopera un tubo di vetro (fig. 239-b) lungo 25 cm. e del diametro di cm. 0,5. L'estremità, che presenta una strozzatura, si provvede di due tappi di ovatta, l'uno esterno e l'altro interno alla medesima. L'altra estremità si chiude con un cappuccio di vetro a smeriglio; si riempie il tubo con solfato di soda o con dello zucchero polverizzato e disseccato (il Foll adoperò meno bene del cloruro di sodio) e poscia si chiude e si sterilizza a secco, lasciando salire lentamente la temperatura da 90° a 150° C. per impedire la caramellizzazione dello zucchero. Un simile apparecchio si può improvvisare facilmente sostituendo un poco di ovatta al cappuccio smerigliato. Per usarlo, si fissa il tubo mediante adatto sostegno in posizione verticale, se l'aria è calma, o inclinandolo alquanto contro la direzione della corrente se spira vento. Si mette in comunicazione coll'aspiratore, facendolo funzionare dopo aver levato il cappuccetto smerigliato. Terminata l'operazione, si rimette il cappuccio, si stacca l'apparecchio e poscia si versa il contenuto in matracci contenenti una data quantità d'acqua. Si lava l'interno del tubicino aspirandone 2-3 volte l'acqua del matraccio, si lascia sciogliere lo zucchero, si agita ben bene e poscia si procede come per l'analisi dell'acqua.

Io ho cercato di riunire insieme i procedimenti migliori, filtrazione attraverso un materiale solubile e solido, e gorgogliamento in un liquido inerte.

**METODO CASAGRANDI** (fig. 241). — Come recipiente, mi servo di una fiaschetta Roszhegyi, nel cui collo innesto un tappo di gomma a doppio foro.

In uno dei fori faccio passare un tubo terminante a punta che raggiunga il fondo della fiaschetta, e nell'altro un tubo corto piegato ad angolo, fornito nella sua porzione orizzontale, che sta fuori della fiaschetta, di una dilatazione sferica in cui pongo del cotone.

Al tubo lungo, nel suo estremo esterno, innesto un piccolo tappo di gomma che serve per portare il filtro di materiale solubile.

Questo filtro lo faccio di saccarosio, sostituendo in esso alla reticella metallica, per trattenere i grani di zucchero, un dischetto dello stesso saccarosio.

La colonna del filtro la faccio alta 5 cm., e i grani di saccarosio di cui mi servo variano dalla grandezza di  $\frac{1}{2}$  ad 1 mm.

Nell'interno della fiaschetta pongo poi una soluzione glicerica al 5 per cento nella quantità di 10 cmc.

In sito si porta da un canto la fiaschetta col liquido, il suo tappo di gomma attraversato dai due tubi, di cui uno fornito a sua volta del tappo di gomma per l'innesto del filtro, tutto

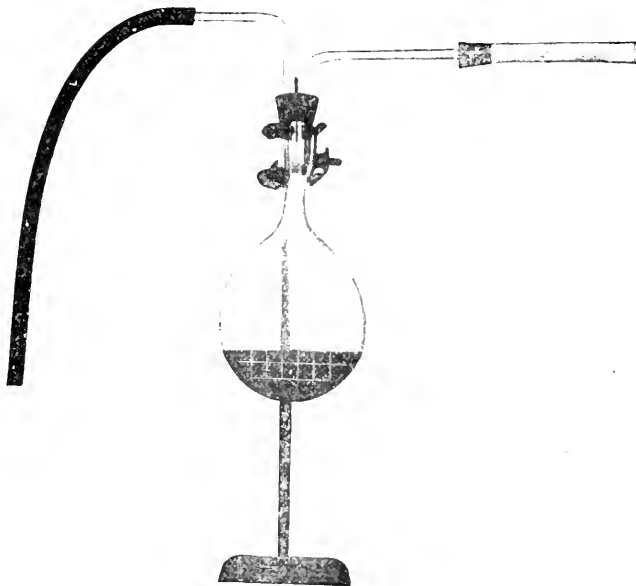


fig. 241.

avvolto in carta bibula e sterilizzato nella stufa al vapore d'acqua, e dall'altro si portano i filtri chiusi con ovatta, rinvolti anch'essi in carta bibula, sterilizzati nella stufa a secco lentamente sino circa a 150°.

Al momento di usare l'apparecchio, si tolgono i tappi di ovatta ai filtri e si applica l'orifizio del tubo, a cui corrisponde il dischetto di saccarosio, al tappo di gomma del tubo lungo della fiaschetta.

Si applica poi un tubo di gomma al tubo corto della fiaschetta e questo tubo si mette in comunicazione con l'aspiratore.

Finita l'aspirazione si toglie il filtro e si chiedono i due estremi con due batuffoli di ovatta sterilizzati che si portano avvolti in carta bibula in sito stesso.

D'altro canto si fluidifica a bagnomaria della gelatina al 15 per cento, che si tiene in provette apposite in quantità di 10 cmc., gelatina fatta con brodo di carne aggiunto con peptone e di cloruro sodico in quantità doppia del normale, e si versa questa gelatina nella fiaschetta di Roszabegyi, togliendo il tappo coi tubi di vetro, e sostituendolo con un batuffolo di ovatta sterilizzato. Si viene così a fare una piatta con tutta l'acqua contenuta nella fiaschetta.

In laboratorio poi si tengono pronti dei palloncini contenenti 100 cmc. di gelatina, che si fluidificano a bagnomaria, e delle grandi capsule (possono servire quelle grandi del Petri, le maschette del Gayon, dei cristallizzatori coperti con una carta pergamena, il cui centro sia attraversato da un tubo chiuso con ovatta, ecc.), entro le quali si spinge tutto il saccarosio del filtro e poi vi si versa la gelatina stessa.



Il saccarosio si scioglie nella gelatina e si ottiene una piattina di substrato nutritivo contenente, dai calcoli da me fatti, press'a poco il 2 o il 2,5 per cento di saccarosio.

Si potrebbe anche dividere il saccarosio in una serie di capsule: ma è meglio fare una capsula sola grande, perchè così si semplifica il procedimento.

Il tubo di vetro del filtro si chiude poi a un estremo con un tappo di gomma sterilizzato. vi si versa dentro un po' di gelatina fluida, si chiude l'altro estremo con ovatta e si fa una coltura arrotolata all'Esmarch.

Volendo poi ricercare i germi patogeni, si può sostituire alla fiaschetta del Roszàhegyi un provettono contenente 100 emc. di glicerina al 5 per cento.

In questi 100 emc. si fa, ad aspirazione finita, pervenire tutto il saccarosio del filtro e la soluzione glicero-saccarosata, si innesta a emc. nei terreni speciali per la ricerca dei germi patogeni, e si inocula, ove si ereda opportuno, anche negli animali.

Volendo quindi praticare l'esame batteriologico dell'aria seguendo questo procedimento, si possono portare in sito due apparecchi montati uguali. l'uno per i germi banali in cui il recipiente contenente la soluzione glicerinata è rappresentato da una fiaschetta di Roszàhegyi e l'altro per i patogeni, in cui alla fiaschetta è sostituito un provettono.

#### 6° per mezzo delle inoculazioni delle polveri.

In alcuni casi, specie quando si debbano ricercare germi patogeni come il b. della *tuberculosis*, si sostituisce l'esame batteriologico dell'aria con quello delle polveri, che si inoculano direttamente negli animali.

Ove si usino le polveri, si può del resto seguire la stessa tecnica indicata per l'esame batteriologico del suolo.

In quanto ai germi che si possono trovare nell'aria, possono distinguersi come quelli del suolo:

1° in germi che si dimostrano coi metodi culturali comuni;

2° in germi che si dimostrano con metodi culturali speciali.

Essi sono generalmente quelli stessi che si trovano nel suolo.

I germi banali, che si trovano nell'aria, provengono infatti dal suolo e dall'acqua: quindi la ricerca qualitativa di essi non può condurre a rinvenire microrganismi diversi da quelli che quivi si trovano. Certamente però primeggiano le forme più resistenti agli agenti fisico-chimici e in particolar modo quelle fornite di spore.

Il numero dei germi banali subisce delle oscillazioni in rapporto con le stagioni, con i mesi, le ore del giorno, le altitudini, le distanze dei continenti, i luoghi chiusi, affollati (Miquel), ecc.

*Riguardo alle stagioni* pare che cresca dall'inverno all'estate e decresca dall'estate all'inverno, mantenendosi però più elevato nelle giornate piovose e nel successivo primo periodo di disseccamento del suolo.

*Riguardo ai mesi* cresce da febbraio a luglio, e diminuisce dal luglio al gennaio.

*Riguardo alle varie ore del giorno* cresce nelle città dei nostri climi dalle 6 alle 8, diminuisce dalle 8 alle 14, torna a crescere dalle 14 alle 20-21, diminuisce dalle 21 alle 2, e torna a crescere dalle 2 alle 6.

*Riguardo alle varie altezze dal suolo* pare che decresca man mano che ci si eleva nella atmosfera. Se si volesse stare ai risultati delle ricerche del Cristiani, bisognerebbe ammettere che al disopra di 1300 m. l'aria fosse sterile.

*Riguardo alle varie distanze dai continenti*, pare che a 100 km. da essi l'aria sia priva di germi.

*Riguardo ai luoghi confinati*, pare dimostrato che se si tengono chiusi, l'aria è pura: basta però che vi penetri l'uomo perchè essa non lo sia più: torna però ad esserlo in circa 1 ora. Se si scaldano, tornano a inquinarsi, anche per le correnti di aria che penetrano dalle fessure delle porte e delle finestre.

*Riguardo ai luoghi affollati* è dimostrato che il numero dei germi si mantiene elevatissimo, specie in inverno. Se funziona un sistema di ventilazione e riscaldamento, permane lo stesso fatto, ma in parte molto meno sensibile.

Studiando il comportamento dei batteri nell'aria che viene immessa nell'Aula del Parlamento italiano e quella dell'aria che ne viene aspirata, io ho trovato che il numero dei germi per mc. subisce oscillazioni più o meno notevoli, alcune volte sommando a varie centinaia ed anche a migliaia, altre volte a poche decine. E ciò sia nell'aria sana che nell'aria viziata, tanto nel periodo estivo che nel periodo invernale: soltanto, in massima, il numero dei germi contenuti per mc. nell'aria sana si è dimostrato inferiore a quello contenuto nell'aria viziata.

A differenza però di quello che è stato osservato nei luoghi affollati non ventilati, nella Aula del Parlamento è minore il numero dei germi in inverno che in estate e ciò perchè, funzionando il sistema di riscaldamento, molti dei germi aspirati, si essiccano e muoiono prima di pervenire nell'Aula stessa. Ciò non può succedere d'estate perchè l'aria viene fortemente inumidita.

È anche per questo che nel periodo invernale la ricerca qualitativa dimostra la presenza quasi esclusiva di forme sporigene, mentre d'estate si trovano molti germi che non producono spore.

### CAP. III.

## ESAME BATTERIOLOGICO DEL TERRENO E DEI MATERIALI DA COSTRUZIONE.

### I. — Esame del terreno.

L'esame batteriologico del terreno è diretto a scoprire sia il numero che le specie dei germi che possono trovarsi in una data quantità, pesata o volumetrica, di terreno.

#### I. *Prelevamento del campione.*

Se si deve raccogliere il terreno in superficie si fa a mezzo di una spatola di platino sterilizzata o del cucchiaino di Fränkel della capacità di  $\frac{1}{2}$  cme. (fig. 242-a), ed in profondità si raccoglie con la trivella di Fränkel, o di quella di Nagel.

La *trivella di Fränkel* (fig. 242-b) consiste in un'asta di ferro della lunghezza di 1 m., munita ad un'estremità di un perforatore a vite e di una doccia scanalata sopra il medesimo, della capacità di 5-10 cme., che si può chiudere o aprire a volontà. Si sterilizza la trivella nella base, si chiude la scanalatura e si avvolge in carta bibula sterilizzata: s'introduce la trivella sterilizzata nel suolo, girandola da sinistra a destra, e arrivati che si è alla profondità voluta, si gira in senso contrario per aprire la scanalatura e riempirla di terreno, si torna a girarla da sinistra a destra per rinchiuderla, e sempre così girandola si estrae.

La *trivella di Nagel* (fig. 242-c) serve per raccogliere il terreno al di sotto di m. 1,50 di profondità. Essa però può approfondirsi nel terreno fino a 10 m. È costituita da un tubo cavo che termina con una robusta elica spezzata. Dentro al tubo se ne introduce un altro che all'estremo porta una camera a cucchiaino. Fatta pervenire la trivella alla profondità voluta si

spinge il tubo interno e gli si imprimono dei movimenti di rotazione in modo che il terreno entri nella camera: quindi lo si estrae.

## 2° *Semina del terreno.*

Così prelevato il terreno, se ne prende col cucchiaino sterilizzato da mezzo ad un grammo, o da mezzo ad un centimetro cubico e si distribuisce in tubi o in fiaschette di Roszahegyi, nelle quali si è precedentemente versato dell'agar o della glicerina liquefatta. Se si usano le scatole di Petri si mette però prima il terreno, e poi la gelatina o l'agar, e si fanno le solite piastre. Usando i tubi, si fanno colture all'Esmarch.

Con questo procedimento, se le colonie sono moltissime, la conta non si può far bene. Meglio sarebbe quindi far l'esame, servendosi dell'acqua di lavaggio, di cui se ne innesta un centimetro cubico o in capsule di Petri, nelle quali si versa dopo la gelatina o l'agar fluidificato, o in fiaschette di Roszahegyi già precedentemente contenenti substrato nutritivo.

Io mi servo di un procedimento analogo a quello indicato dall'Emmerich con un adatto apparecchio.

Questo è costituito da due coperchi cilindrici di metallo (v. fig. 243) dei quali il superiore *A* porta sul fondo un pernio a vite *a* che fa da asse. Questo pernio, nel punto in cui si attacca al fondo presenta dei fori coi quali comunica coll'esterno per un tubo *b* a cui è annesso, per mezzo di un tubo di gomma *c*, stringibile per mezzo di una morsa, e un tubo di vetro *e* portante una dilatazione in cui si pone del cotone.

Il cilindro inferiore *B* porta al fondo soltanto un tubo esterno *f* che si congiunge con un tubo di gomma *h* stringibile con una morsetta, nel quale è innestato un tubo di vetro tirato a punta. Al bordo di questo cilindro è adattato un cerchio *i* portante nell'interno una scanalatura, su cui si fa poggiare una fitta rete metallica *z* che viene compressa contro la scanalatura da un disco metallico forato *c*, che si avvitò entro il cerchio stesso *i*.

Questo disco metallico *C* nel suo centro è poi fornito di una madrevite, entro la quale si avvitò l'asse *a* del cilindro superiore *A* per chiudere l'apparecchio.

Tra i bordi piani del disco metallico e quelli del cilindro superiore *A* si può collocare un anello di gomma per maggior garanzia di chiusura.

Tutto l'apparecchio, a pezzi separati, si sterilizza nella stufa di Koch una prima volta, e poi una seconda mettendo a posto il retino e il disco forato, avvolgendo i pezzi in carta bibula.

Al momento di doverlo adoperare, si svolge il recipiente dalla carta bibula, si pone sul disco forato il terreno (triturato in un mortaio sterilizzato, tenuto coperto con un cappuccio di gomma) su questo si versa quella quantità di acqua distillata sterilizzata, che si crede sufficiente (50 cmc.), e poi si avvitò il recipiente superiore. Va da sé che le pinzette *e*, *h* annesse ai due tubi di gomma debbano essere strette.

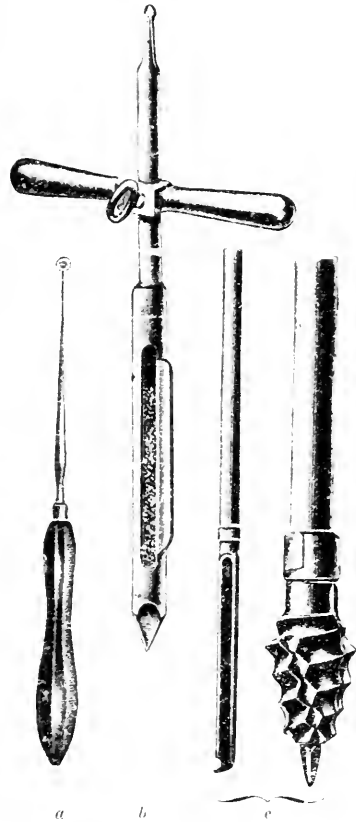


fig. 242.

Indi si sbatte bene, poi si svita la pinzetta superiore *e* e dopo aver collocato sotto al tubofiltrato a punta dei recipienti sterilizzati, si apre l'inferiore *h*. Il liquido passerà così nei recipienti.

Si ripete l'operazione 4-10 volte proteggendo tra un intervallo e l'altro la punta di vetro entro un tubo da saggio sterilizzato.

Dell'acqua raccolta si prendono poi determinate quantità con pipette sterilizzate, distillandola in capsule di Petri in cui si versa il substrato nutritizio, come si fa per gli esami batteriologici delle acque.

Quanto ai substrati di coltura il Faelli, che si è occupato di quelli per i germi banali che si possono trovare nei terreni, afferma che molti di essi abituati in mezzi molto differenti da quelli che si usano comunemente in batteriologia, non possono in questi crescere e moltiplicarsi.

Egli preconizza un substrato così fatto: si prendono 300 gr. della terra da esaminare e si mettono in un vaso con un litro di acqua distillata, si rimuovono ogni tanto per 24 h; poi si filtra attraverso un panno, si sterilizza per 24 h a 120° in autoclave e si filtra attraverso carta; si aggiunge al filtrato tanta acqua distillata da raggiungere 1 litro, poi gr. 7,5 di albumosa di Heyden, 1% di saccarosio e 15 gr. di agar; si mette in provette (10 cmc. per ciascuna provetta); si sterilizza per 3 giorni a 120° in autoclave per  $\frac{1}{4}$  d'ora.

Secondo l'A. in questo terreno si ha uno sviluppo abbondantissimo dei microrganismi del suolo, compresi i denitrificanti (*il b. denitrificans*, *il ribrio denitrificans*, *il b. stutzeri*, *il b. centropsor*, *il b. filifaciens*, *il b. nitrovor*, ecc.) che non crescono o crescono male in terreni ordinari. Solo i nitrificanti non si svilupperebbero; ma per questi servirebbe bene quello del Winogradsky o quello di Beyerinck.

Secondo Winogradsky 25 cmc. di silicato di potassa, si diluiscono in 75 cmc. di acqua e si versano in 50 cmc. di acido cloridrico diluito.

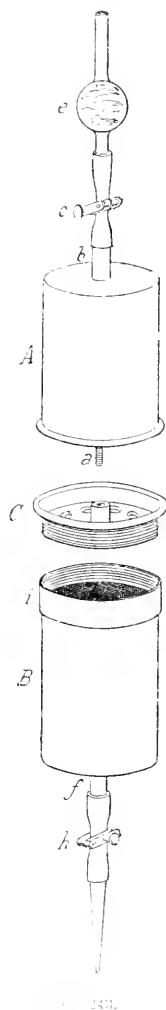
Si dializza almeno per 10 giorni nell'acqua corrente (3 giorni non sarebbero sufficienti secondo Faelli) e per 3 giorni in acqua distillata, sino a che non dà più reazione (intorbidamento col nitrato di argento). Si prepara intanto un'altra soluzione così fatta:

Solfato di ammonio . . . .	gr. 0,4;
solfato di magnesio . . . .	» 0,05;
fosfato di potassio . . . .	» 0,1;
cloruro di calcio . . . .	tracce;
carbonato di sodio . . . .	gr. 0,6;
acqua distillata . . . .	» 100;

Questa soluzione si mescola alla prima.

Secondo Beyerinck si scioglie dell'agar a caldo in acqua distillata, si filtra la soluzione e si lascia raffreddare, poi si aggiunge acqua distillata, si lascia riposare, e dopo qualche giorno si versa e si rimuove.

Dopo 8-14 giorni, quando si vede che si siano allontanate le sostanze organiche solubili, si aggiunge il 0,2% di cloruro di potassio e una certa quantità di carbonato di calcio puro precipitato e si sterilizza.



**Batteri banali nel suolo.**

Il numero dei batteri banali del suolo varia a seconda della qualità del suolo e della profondità a cui si preleva il campione. Certamente man mano che ci si discosta dalla superficie diminuisce il numero dei germi: però la diminuzione è irregolare e varia in diverse condizioni.

I vari sperimentatori ad ogni modo avrebbero trovato:

	in superficie	a 3 m. di profondità
a Parigi (campo di Marte) (Miquel) . .	4.000.000	7100
a Berlino (terra di giardino) (Fränkel) . .	450.000	100
a Torino (suolo stradale) (Maggiora) . .	2.200.000	18 000

Se poi sui terreni si depongono materiali organici (immondezza stradale, ecc.), cresce molto il numero dei germi.

Basterà ricordare che il Miquel nella polvere delle case del centro di Parigi ne ha trovato 2.100.000, il Manfredi nelle immondezze di Napoli da 716.000.000 a vari miliardi, che nella immondezza di Rostok se ne sono trovati da 2 a 40.000.000, che nella polvere stradale di Roma (di una via principale selciata) una volta ne ho trovato 175.500 per grammo.

Tra i batteri banali, quelli dei suoli agrari, ricorderò col Faelli, avrebbero una grande importanza biologica.

Basterà ricordare che il Duclaux ha dimostrato che facendo germinare del frumento in un terreno ricchissimo di materie organiche ma privo di microrganismi, in parte esso non si sviluppava: i semi poi che germogliavano, davano luogo a pianticelle sottili, piccole, delicate, come quelle che si sviluppano nell'acqua pura. Il Kramer, per conto suo, ritiene che i fenomeni che fino ad ora, nel terreno, si vollero attribuire a sostanze chimiche inorganiche e a cause fisiche, siano dovute a microrganismi, e così pure il Berthelot.

Il numero dei germi, che alcuni autori avrebbero trovato nei suoli agrari, è il seguente:

- 1.514.800 Reimers nei pressi di Berlino :
- 300.000 Fraenkel nei dintorni di Potsdam :
- 650.000 Kramer presso Dresda :
- 718.000 Miquel presso Parigi.

Nella campagna romana il Faelli ha trovato un massimo di 1.758.000 e un minimo di 620.900. Quivi il numero di germi non varierebbe col variare delle stagioni: il maggior numero di essi, che si troverebbe ordinariamente a 15 cm. di profondità, nei periodi di siccità scenderebbe gradatamente fino a 50 cm.

Secondo l'autore, il 76 % delle colonie sarebbero costituite da batteri e bacilli, il 18 % da muffe e blastomiceti, e il resto da cocci e forme diverse (streptothrix, ecc.).

Essi ha trovati abbondantissimi i fermenti dell'urea (Miquel), che hanno una grande importanza nella trasformazione dell'urea in carbonato di ammonio: i protei importanti per l'azione che hanno sulle materie albuminoidi e per le ptomaine che formano.

Altri microrganismi trovati dal Faelli e che favoriscono la formazione dell'ammoniaca sono il *b. mycoides*, il *b. mesentericus vulgaris*, il *b. fluorescens liquefaciens* e *fluorescens putidus*, nonché vari di quei batteri liquefacienti che in mancanza di dati diagnostici differenziali si compresero dal Dujardin nella denominazione generica di *b. termo*; il *b. violaceum* e il *b. prodigiosum*, cui si dà l'importanza per le trasformazioni chimiche a cui dà luogo; il *b. erythrosporius* e il *b. megaterius* al quale si vuole dare ora speciale importanza, perchè eserciterebbe un processo di preparazione all'azione dei nitrificanti, e anzi per taluni è un microrganismo che fissa l'azoto dell'aria in profitto dei cereali (Ellembach).

Il Faelli ha trovato anche molte sarcine, come pure varie streptothrix e in ispecial modo la *str. nigra (chromogenes)*, alla quale si dà molta importanza nei processi di trasformazione delle sostanze organiche nel suolo e in particolare nella formazione di quei composti che vanno, per la poca conoscenza di essi, sotto il nome generico di humus; la *str. Hoffmann* a cui il Faelli attribuisce una funzione non dissimile dalla precedente, che cioè attacchi energicamente gli albuminoidi e certe sostanze idrocarbonate.

Negli adatti terreni ha isolato il nitrobatterio del Winogradsky e il nitrosomonas, dei quali non si ha però ancora una chiarissima idea, per quanto si sia fatto molto cammino dagli studi di Schoeing e Muntz.

Anche gli ifomiceti sarebbero numerosissimi, anzi uno di essi avrebbe una speciale importanza nelle trasformazioni chimiche del terreno, il *cladosporium humifaciens* studiato dal Müller e dal Fröh.

### Batteri patogeni nel suolo.

Quanto alla presenza nel suolo di batteri patogeni per l'uomo, ecco ciò che dicono alcuni autori.

Essi si trovano insieme coi saprofiti negli strati più superficiali del suolo e alcune volte anche ad una certa profondità. Alcuni di essi sono costantemente presenti come se il suolo fosse il loro habitat normale, e questi sono il *b. dell'edema maligno* e il *b. del tetano* nella terra di giardino e in quella dei campi. Altri germi patogeni si rinvencono poi nel terreno, ma senza dubbio accidentalmente, in modo transitorio, per quanto si possa ancora pensare, insieme a Duclaux, che i germi causa di tutte le malattie siano costantemente presenti nel suolo o vi pervengano con gli escrementi degli individui malati o anche coi cadaveri di questi.

La distribuzione nel suolo dei germi patogeni o capaci di divenirlo, è regolata come quella degli altri microbi, dalle proprietà e dai caratteri speciali dei vari strati terrestri. Per cui nei terreni uniformemente porosi ed a granuli molto fini questi germi sono trattenuti a breve distanza dalla superficie: è qui che essi trovano la materia organica indispensabile al loro nutrimento, l'aria ossigenata e, specialmente nell'estate, una temperatura relativamente elevata ed a loro conveniente.

Al contrario, a maggiori profondità, i germi patogeni non possono trovare le condizioni favorevoli al loro sviluppo. La temperatura non li favorisce sempre, poichè ordinariamente essa è inferiore a 10° C. D'altra parte si è osservato dopo molto tempo che le specie saprofitiche meno delicate e che meglio si adattano all'ambiente si appropriano delle sostanze nutritive del suolo con una energia tale che i germi patogeni ne sono vittime (Miquel). Koch ha tentato di coltivare il bacillo del carbuncchio nel terreno, nella terra ricca di humus proveniente dalle rive di un fiume, nella melma, nel fango aggiunto di acqua, e non ha mai notato alcuno sviluppo. Præussnitz ha fatto anch'esso delle ricerche nello stesso senso con varie specie di terre e con letame, senza però ottenere moltiplicazione di batteri patogeni (Flügge).

Schrakamp ha potuto constatare lo sviluppo del bacillo del carbonchio in una terra previamente sterilizzata e inaffiata d'urina, di sangue, di siero, d'infuso di fieno.

Ma è chiaro che questa esperienza nulla prova per un suolo ordinario, non sterilizzato, in cui i saprofiti hanno il vantaggio, senza parlare dell'accumulo di  $CO_2$  nocivo ai batteri patogeni.

Questi germi si trovano dunque ordinariamente in cattive condizioni nel suolo e non vi si moltiplicherebbero, salvo in certe circostanze di tempo e di luogo molto eccezionali.

La questione sta piuttosto nel sapere quanto tempo essi sono capaci di resistere alle cause di distruzione accumulate intorno ad essi e di conservarsi.

Ora non sembra che questo tempo possa essere molto lungo, a meno di avere che fare con dei germi capaci di dare delle spore, le quali si conserverebbero per una lunga serie di anni nella terra disseccata, come ha constatato Miquel, specialmente per i germi del tetano; ma è necessario ancora che il difetto di umidità, di aereazione, di temperatura conveniente, non abbia mai permesso a queste spore di germinare e di dare origine a dei nuovi bacilli molto meno resistenti e senza dubbio destinati ad una distruzione rapida.

È inoltre necessario che la sporumazione si sia effettuata prima della penetrazione nel suolo, dove la temperatura bassa la ostacolerebbe. Così Soyka non ha mai visto il bacillo del carbonchio sporulare nella terra al di sotto di  $18^{\circ}$  C., temperatura alla quale può giungere solo lo strato superficiale durante la buona stagione, e l'osservazione di Soyka vale probabilmente anche per gli altri batteri patogeni (Duclaux).

Nelle specie in cui mancano le spore, la conservazione degli agenti infettivi in seno alla terra sembra molto limitata.

Losenier non avrebbe trovato il b. del carbonchio virulento nel suolo dopo un lungo tempo (p. es. un anno) se non dove si erano formate delle spore prima dell'intumazione del cadavere d'esperimento.

A dire dello stesso autore, i bacilli della tubercolosi, sempre facili a mettersi in evidenza verso il 60° giorno dal sotterramento dei cadaveri infetti, si dimostrano difficilmente dopo il 95° giorno, e affatto al di là del 125°.

Per quello che riguarda il *ribrione del colera* Petri lo ritrovò al massimo dopo 19 giorni nei cadaveri delle cavie sotterrate e rese infette con questo germe: Losenier constatò ancora la sua presenza dopo 28 giorni. Secondo De Giæxa a un metro di profondità in un terreno sterilizzato esso morirebbe in 4 giorni per la concorrenza dei saprofiti, qualunque ne sia la natura.

Il *bacillo di Eberth* contenuto nei corpi esumati sarebbe molto rapidamente distrutto. Petri non ve l'ha mai trovato; Losenier lo avrebbe trovato una sola volta; però lo stesso autore avrebbe riscontrato, in seno agli strati terrestri, dei bacilli che offrivano tutti i caratteri del bacillo del tifo senza che si fosse potuta invocare una contaminazione anteriore dell'ambiente coi materiali tifosi.

La possibilità di un simile fatto è stata verificata ed affermata da Remlinger e Schneider, i quali sopra una diecina di analisi di terra di giardino superficiale e profonda un metro, non in periodo di epidemia, svelarono 4 volte il bacillo di Eberth.

Secondo Grancher e Dechamps esso può vivere nel terreno più di 5 mesi e mezzo; secondo Karlinski 3 mesi solamente e secondo Wartz e Mosny appena 2 o 3 giorni.

Per ricercare i germi patogeni nel suolo si procede in diverso modo.

*Per gli anaerobi* (carbonchio sintomatico, edema maligno, tetano) V. pag. 424, 429, 434.

Per il *b. del tifo, del colera, il ribrione colerigeno*, ecc. ci si può servire dell'acqua di lavaggio del suolo, nella quale si ricercano come nell'acqua.

In questi ultimi ha preso grande importanza la ricerca del *b. del tifo*.

Tra i metodi citerò i seguenti, che però gli autori escogitarono per ricercare il bacillo in altri materiali:

*Metodo Chantemesse (per l'acqua).* — Si filtra l'acqua attraverso a una candela: ciò che rimane sulla candela si innesta in acqua peptonizzata, che si ricambia tre volte filtrandola attraverso la candela, facendovi anche gorgogliare dell'aria sterile. I tre liquidi ottenuti si centrifugano: se c'è il b. del tifo, rimane in sospensione ed è facile isolarlo coi comuni metodi, anche senza ricorrere alle indicazioni dell'autore.

*Metodo Kleiner (per le feci).* — Il terreno si lava con soluzione di cloruro sodico al 0.85 %: si lascia per vario tempo in riposo e si raccoglie l'acqua superficiale con la quale si fanno gli opportuni innesti.

*Metodo Péro (per l'acqua)* (adottato da Faelli). — Si versano 100 emc. di brodo in un pallone della capacità di 1000 emc., vi si aggiungono 600-700 emc. di acqua di lavaggio del terreno, poi 20 emc. di acido fenico al 5% e 50 emc. di una soluzione di peptone neutra e sterile. Si pone a 41° (col metodo Ponchet) e dai palloni intorti dati si fanno prelevamenti di materiale e si innestano negli adatti substrati per isolare definitivamente il germe.

## II. — Esame del materiale da costruzione.

Dopo che molti autori dimostrarono che anche nei materiali da costruzione possono esistere dei germi, o possono penetrarvi purchè non si spalmino di sostanze impermeabili le superficie di esse, anche questi materiali furono oggetto di ricerche, le quali mirarono a constatare:

- 1° se vi preesistevano dei germi,
- 2° se attraverso di essi i germi possono penetrare,
- 3° se vi si trovano germi patogeni.

Per fare la prima ricerca, con degli scalpelli previamente sterilizzati si asportavano dal blocco diversi pezzettini, si sceglievano fra questi quelli che si erano staccati a diverse profondità del blocco, e si esaminavano. Invece di adoperare lo scalpello, si usa spesso di trapanare il blocco stesso con un trapano da muratore previamente sterilizzato, e di raccogliere la polvere che si ottiene a diverse altezze. Siccome però adoperando questi due metodi, non s'impedisce che i germi che si trovano alla superficie cadano nella profondità del blocco, così è meglio quindi spaccare il blocco stesso e poi raccoglierne la polvere od i frammenti a diverse altezze. Per spaccare il blocco, si adoperano dei grossi scalpelli a larga base, o meglio si adoperano le comuni accette che prima si sterilizzano: se si incontrano delle difficoltà pratiche, si può iniziare l'operazione servendosi di una sega.

Spaccato il materiale, per mezzo di raschietti sterilizzati coll'alcool o nella stufa, si raccoglie a diverse altezze la polvere, che si distribuisce in capsule di Petri, nelle quali poi si versa il materiale da cultura. Se si pesa prima la capsula vuota, e poi con la polvere, si può stabilire anche il numero dei germi che si contenevano in una data quantità di materiale.

Per fare la seconda ricerca, cioè per stabilire se attraverso determinati blocchi possono penetrare germi provenienti dall'aria, si foggiano dei piccoli blocchi rotondi del materiale in esame, e si chiudono entro cassette di latta che abbiano nella loro superficie inferiore e superiore un tubo. Si fa in modo che fra le pareti del materiale e quelle della cassetta non possa penetrare aria, e poi a mezzo del tubo inferiore si uniscono ad un apparecchio di Strauss-Wurtz, in cui si pone della gelatina con qualche goccia di olio di oliva. Invece della scatola si può adoperare un imbuto di vetro, fra le cui pareti si incastra il materiale da esaminare con un mastice speciale fatto di cera vergine, pece e cemento.

Messo in comunicazione l'apparecchio di Strauss-Wurtz (a cui si è annessa la cassetta o l'imbuto) con un aspiratore, si fa gorgogliare l'aria nella gelatina.

Dopo un certo tempo dacchè l'aria è gorgogliata nella gelatina, si fanno delle colture arrolate.

Naturalmente si può adattare anche il mio apparecchio e allora si fanno delle piatte.



Va anche notato che è utile che questa operazione si pratichi con cilindri di materiale da costruzione che abbiano diverso spessore.

Si può anche cercare il potere di penetrazione per capillarità dei germi nel materiale da costruzione. All' uopo si costruiscono dei parallelepipedi di diversa altezza (circa 20 cm.) ad un estremo dei quali si pratica una specie di fossetta, i quali si sterilizzano antecedentemente mantenendoli per otto ore ad una temperatura di 150° C. Tali pezzi si mettono in un cilindro di vetro, sul cui fondo si sospendono con dei sostegni di diversa specie, poi si versa nella fossetta una coltura di un germe qualunque ben riconoscibile, per esempio, di prodigioso.

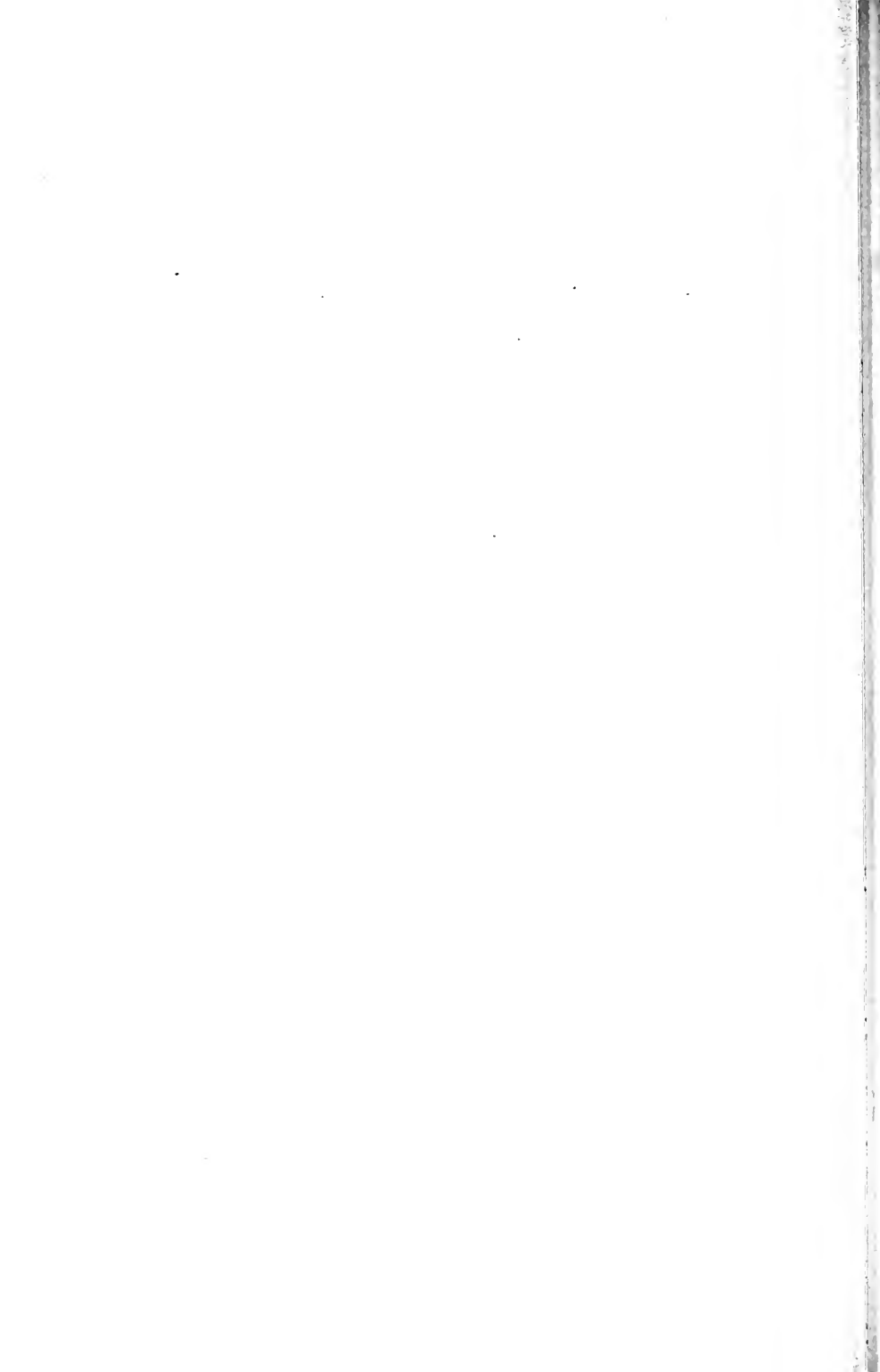
Quando nella superficie inferiore del parallelepipedo è comparsa una gocciolina di liquido dovuta a filtrazione della coltura posta nella fossetta, si raccoglie e con essa si fanno altre colture. Si può anche trapanare a diverse altezze il pezzo di materiale.

Questo metodo offre due gravi inconvenienti: la fossetta che bisogna scavare nel pezzo di materiale rende di diverso spessore le sue pareti, dippiù gocciolate della coltura medesima possono, passando attraverso le superficie esterne del blocco, pervenire nella sua superficie inferiore.

Per questi motivi io mi servo di cilindri piuttosto che di parallelepipedi, spalmandoli esternamente del mastice di cui si è detto sopra, e sostituendo alla fossetta un anello di latta, o di carta o di altro, che s'innesta alla parte superiore del cilindro, e che fa da recipiente per la coltura. Invece di trapanare poi i blocchi a diverse altezze per vedere a quale livello i germi si trovino o si arrestino, mi servo di cilindri di diversa altezza.

Un altro metodo da usare per questo studio consiste nel porre dei parallelepipedi di materiale da costruzione entro grandi cristallizzatori, in cui sia versata una coltura di prodigioso o di piociano; e poi per mezzo di trapanazioni vedere a quale livello siano penetrati i germi: però io credo più utile adoperare cilindri di diversa altezza, con superficie spalmate di materiale impermeabile, ed in cui i germi possano salire per capillarità solo dalla loro superficie inferiore.

Per ricercare i germi patogeni nei materiali da costruzione, questi si polverizzano prima e poi si trattano come il terreno.



SCALA ALBERTO

CHIMICA APPLICATA ALL'IGIENE



# CHIMICA APPLICATA ALL'IGIENE

## ACQUA.

### Generalità.

Le acque meteoriche, quando cadono sulla terra, chimicamente e talvolta anche igienicamente considerate, non sono pure. Esse tengono in soluzione: *sostanze minerali ed organiche; ossigeno ed azoto; acido carbonico e tutti i gas che accidentalmente si possono trovare nell'aria, come ammoniacca, anidride solforosa, idrogeno solforato, acido cloridrico, ecc.*, e tengono in sospensione: *sostanze organiche e minerali che fanno parte del pulviscolo atmosferico.*

Una prova della poca purezza delle acque meteoriche si ha dalle analisi di tali acque, fatte fino ad ora, sia raccogliendole entro città popolate, sia raccogliendole in campagna. Eccone alcune eseguite in Italia.

TAB. 36.

Luogo ove è stata raccolta l'acqua	N. di campioni analizzati	In 100,000 parti									
		Residuo solido	Sostanze organiche	Calce	Magnesia	Ammo- niaca	Cloro	Anidride solforica	Acido nitroso	Acido nitrico	Silice
Catania (città, Basile analiz- zatore)											
Estate '88	40	28,20	4,91	0,171	0,122	0,20	0,36	0,611	0,0008	0,065	0,726
Autunno »	»	2,755	0,54	0,244	0,070	0,008	0,253	0,923	0,0003	0,042	0,061
Inverno '88-'89	»	4,123	0,113	0,250	0,080	0,062	0,736	0,349	0,0002	0,117	0,057
Primavera '89	»	4,367	0,595	0,255	0,160	0,031	1,196	0,530	0,0002	0,018	0,483

Anche Casali A. ha esaminato le acque meteoriche cadute a Bologna nei mesi di gennaio, febbraio e marzo del 1901, e vi ha determinato l'ammoniaca, che eravi contenuta nelle seguenti quantità per litro:

	massima	media	minima
Nebbia	0,06970	0,05440	0,01700
Brina	0,05440	0,02754	0,02730
Neve	0,00935	0,00629	0,00289
Pioggia	0,01428	0,00561	0,00068

Allorchè coteste acque vengono a contatto del terreno, non possono rimanere quali sono, per virtù del potere solvente che esse esercitano su tutti i minerali costituenti la crosta terrestre, ma tendono tanto più a mineralizzarsi, quanto maggiore è la solubilità dei materiali che esse incontrano e quanto migliori sono le condizioni che le acque stesse presentano. Così, anche ammesso che l'acqua che cade sulla terra sia purissima, e, per una ipotesi inammissibile, anche priva dei gas atmosferici, essa scioglierà tutte le sostanze minerali, comprese quelle che noi conosciamo come le più insolubili, nelle proporzioni seguenti:

Carbonato di calcio	per 100,000 parti	9,48
Carbonato di magnesio	»	piccola quantità
Solfato di calcio	»	25,90
Silicato d'alluminio	»	0,5
Silice gelatinosa	»	13,30
Carbonato di piombo	»	1,90
Piombo metallico (1)	»	8,18

Ma, quando l'acqua contenga ossigeno ed acido carbonico, è facilitata la disgregazione di certe rocce e la formazione di certi sali, per cui la solubilità dei materiali incontrati dall'acqua aumenta grandemente. Difatti, l'ossigeno e l'acido carbonico attaccano le rocce feldspatiche o le rocce contenenti silicati basici, come il pirosseno e l'amfibolo e formano carbonati alcalini: il carbonato di calcio e di magnesio si combinano coll'acido carbonico, e danno carbonati acidi o bicarbonati, solubili nell'acqua e questa solubilità sta in relazione colla quantità di acido carbonico. Così un litro di acqua, satura di acido carbonico, può disciogliere: (2 :

Carbonato di calcio a 10° C. gr. 88,00

Carbonato di magnesio a 13° C. » 28,45

(1) ANTONY F. e BENELLI T., *Esperienze relative alle acque potabili che hanno attraversato tubi di piombo*, *trattato chimica italiana*, vol. 26, pag. 353.

(2) BESEAU ammette che tra il carbonato di calcio e l'acido carbonico non vi sia combinazione, ma che si tratti di una semplice soluzione: di un fatto cioè puramente fisico. SUBEIRAN invece per il carbonato di magnesio, ammette la combinazione, perchè il rapporto, tra acido carbonico e magnesio, corrisponde alla formula del bicarbonato.

e queste quantità sono molto distanti da quelle ottenute, facendo agire sugli stessi carbonati acque prive di sali e di acido carbonico.

Le cifre delle solubilità, sopra esposte, hanno un valore assoluto per le condizioni nelle quali sono state determinate, ma hanno un valore relativo per le acque nelle quali si trovano disciolti altri sali minerali, poichè la solubilità, in questo caso, varia moltissimo. Così il carbonato di magnesio, che è molto poco solubile nell'acqua pura, diviene abbastanza solubile in un'acqua contenente solfato di magnesio. Per es., un litro d'acqua che contenga 70 gr. di solfato di magnesio, ne può disciogliere 5 gr. Il piombo metallico che in un litro di acqua distillata e disaerata si scioglie nella quantità di gr. 0,0819, si scioglie nella quantità di gr. 0,0136 nell'istessa acqua disaerata e contenente cloruri, e nella quantità di gr. 0,0245 nell'istessa acqua disaerata e contenente carbonato acido di calcio. Per la qual cosa, tra le sostanze disciolte nell'acqua e quelle che possono disciogliersi, esistono dei veri rapporti, indipendenti dalla solubilità assoluta di queste sostanze, ma dipendenti dalla quantità degli altri sali e delle altre sostanze in soluzione e dalle reciproche influenze, che le une possono esercitare sulle altre. Quindi, le acque meteoriche che hanno attraversato strati più o meno grandi di terreno, tornando alla luce, saranno modificate secondo la risultante delle solubilità e di coteste influenze; per cui tra acqua e sali esisterà allora un equilibrio perfetto.

Quando le falde acquifere, si trovano ad una diecina di metri al di sotto del suolo, nelle nostre latitudini, non risentono più la influenza delle temperature esterne; e l'acqua avrà una temperatura invariabile, rappresentante la temperatura media annuale del luogo. Fanno eccezione a questa regola le falde acquifere situate nei paesi ove la media annuale è poco elevata; così nei luoghi ove cotesta media è zero, le sorgenti avranno una temperatura costante di  $+ 4^{\circ}$  C. Inoltre, se la falda acquifera è molto profonda, le acque basse avranno una temperatura più elevata delle acque alte, per causa del calorico terrestre, e le acque basse, più calde e meno dense, saliranno alla superficie e verranno alla luce con una temperatura un po' superiore alla media annuale.

Quando invece le falde acquifere sono superficiali, ovvero si trovano a pochi metri al di sotto del suolo, l'acqua avrà una temperatura che varierà colle stagioni.

Dai pochi dati esposti sulla mineralizzazione e stato fisico dell'acqua che scaturisce dalla terra si capisce l'importanza dello

studio geologico del terreno che viene in contatto coll'acqua e che sovrasta alla falda acquifera. Non si procederà perciò ad analisi chimica o non si darà giudizio, se non quando sia noto dettagliatamente cotesto studio geologico e le condizioni della sorgente.

### Analisi Chimica.

L'analisi chimica di un'acqua può avere due scopi, nettamente distinti: uno scientifico, pel quale si vuol conoscere esattamente la qualità e la quantità delle sostanze disciolte; uno sanitario, pel quale si vuol conoscere se un'acqua, per le sostanze che tiene in soluzione, possa o non essere potabile. L'analisi di un'acqua a scopo scientifico appartiene esclusivamente al chimico e comprende:

- 1° la determinazione quantitativa dei gas in soluzione;
- 2° la determinazione quantitativa delle sostanze fisse in soluzione;
- 3° la determinazione quantitativa delle basi e degli acidi che costituiscono le sostanze minerali in soluzione;
- 4° la determinazione quantitativa del carbonio e dell'azoto della materia organica in soluzione;
- 5° la determinazione quantitativa delle sostanze sospese, se ne sia il caso;
- 6° la determinazione quantitativa delle basi e degli acidi costituenti le sostanze sospese;
- 7° La determinazione quantitativa dell'azoto e del carbonio della materia organica sospesa.

Invece, l'analisi di un'acqua, a scopo sanitario, appartiene, oltrechè al chimico, anche all'ufficiale sanitario e comprende:

- 1° la determinazione quantitativa delle sostanze fisse in soluzione;
- 2° la determinazione della durezza totale, temporanea e permanente;
- 3° la determinazione quantitativa del cloro, dell'acido solforico e dell'acido nitrico;
- 4° la ricerca qualitativa dell'acido fosforico, dell'ammoniaca e dell'acido nitroso;
- 5° la determinazione quantitativa delle materie organiche in soluzione;
- 6° la ricerca qualitativa del piombo e dello zinco;
- 7° la determinazione quantitativa delle sostanze sospese, se ne sia il caso.



## Analisi di un'acqua a scopo sanitario.

**NORME PER ATTINGERE L'ACQUA PER L'ANALISI.** — L'acqua attinta per l'analisi, deve rappresentare nel modo più perfetto, quella sulla quale il chimico o l'ufficiale sanitario è chiamato a pronunciare il proprio giudizio. Perciò tanto il modo di raccoglierla, quanto il modo di conservarla deve essere sottoposto a regole fisse che, in ogni caso, devono essere scrupolosamente osservate:

1° le bottiglie, destinate a raccogliere l'acqua, devono essere di vetro bianco, con chiusura a smeriglio, perfettamente pulite e mai usate in precedenza. Quando non si abbiano bottiglie con costosa chiusura si useranno turaccioli di sughero nuovi ripetutamente lavati coll'acqua da esaminare;

2° prima di attingere l'acqua, le bottiglie devono essere lavate accuratamente almeno tre volte coll'acqua stessa; poi si turano ed il turacciolo si assicura con tela legata sul collo della bottiglia e con un sigillo di cera-lecca;

3° quando si debba attingere l'acqua da un serbatoio, da un pozzo o da un torrente, si immerge la bottiglia completamente, per evitare, per quanto è possibile, di raccogliere l'acqua della superficie; ma non si deve immergere tanto da sollevare il limo del fondo;

4° quando si debba attingere l'acqua da un pozzo nel quale sia stata fissata una pompa, è necessario di estrarne avanti almeno 20 litri per evitare di raccogliere l'acqua che abbia lungamente soggiornato nel tubo della pompa;

5° Se il campione attinto debba rappresentare l'acqua fornita ad una città, è necessario che sia preso da una diramazione che comunichi direttamente col condotto principale e non da un serbatoio o da un condotto alimentato da un serbatoio.

Inoltre l'acqua deve essere accompagnata da alcune indicazioni a seconda che essa sia stata attinta da un pozzo, da un fiume o torrente, oppure da una sorgente.

Se attinta ad un pozzo, si deve:

1° descrivere il suolo ed il sottosuolo nel quale il pozzo è stato scavato e la falda acquifera che alimenta il pozzo;

2° determinare il diametro e la profondità del pozzo, e la sua distanza da latrine o fogue.

Se attinta da un fiume o torrente, si deve:

1° determinare la distanza che passa dalla sorgente al punto ove si è attinta l'acqua;

2° dichiarare se acqua di fogna, oppure altre sostanze di rifiuto animale si riversino nel fiume o nel torrente prima del punto ove è stato attinto il campione.

Se attinta da sorgenti, si deve:

1° descrivere la roccia da cui l'acqua scaturisce, il soprasuolo, il suolo e la sua coltivazione;

2° determinare la temperatura dell'acqua e quella dell'ambiente, presa contemporaneamente; indicare, possibilmente, se la temperatura dell'acqua si mantenga costante nelle diverse stagioni dell'anno; indicare finalmente la temperatura media annuale del luogo;

3° indicare se dopo piogge abbondanti l'acqua s'intorbidì.

L'acqua deve essere analizzata poco tempo dopo attinta; ma se ciò non si possa fare, si conserva in luogo fresco ed oscuro, per moderare la trasformazione di alcune sostanze che vi si possono trovare. Si deve evitare l'esposizione alla luce solare, perchè con essa le ossidazioni si compiono con maggiore celerità che alla luce diffusa od all'oscuro. Si devono determinare, in ogni modo, prima che è possibile, le sostanze organiche, e si deve ricercare l'ammoniaca e l'acido nitroso.

### Caratteri fisici.

Prima di sottomettere l'acqua alle varie operazioni, si rimescola per darle uniformità, poi si osserva se sia limpida, se abbia colore, sapore ed odore.

**COLORE.** — Il colore si manifesta allorchando si guardi una superficie bianca attraverso uno strato d'acqua di sufficiente spessore. Perciò si versa l'acqua in un cilindro di cristallo, alto almeno 50 centimetri e stretto, e si posa sopra un foglio di carta oppure sopra una mattonella smaltata bianca. Guardando dall'alto al basso, se l'acqua abbia anche un leggero colorito, si vedrà quella parte della carta o della mattonella, compresa dal lume del cilindro, non più bianca ma più o meno colorata, a seconda della qualità delle impurezze disciolte.

**LIMPIDEZZA.** — La limpidezza si apprezza interponendo tra l'occhio ed un punto luminoso una bottiglia piena d'acqua. Le sostanze sospese, anche più minute, si vedranno muovere nel liquido; dipenderà dal loro aspetto e dalla loro quantità separarle per filtrazione, prima di incominciare l'analisi, oppure considerarle come parte dell'acqua.

L'ossido di ferro, il carbonato di calcio ed altre sostanze minerali innocue, possono essere separate e trascurate; invece le sostanze sospese che possono provenire da rifiuti di manifatture o da rifiuti dell'uomo, devono essere raccolte accuratamente ed esaminate al microscopio, per vedere se tra esse vi siano uova di elminti, residui di tessuto muscolare, fibre di cotone, di lino, di lana, ecc., che permettano di affermare una corruzione del-

l'acqua. Per raccogliere le sostanze sospese si riempie con acqua un cilindro di cristallo e si lascia in riposo fino a che siasi formato un deposito nel fondo. Si toglie l'acqua sovrastante limpida per mezzo di un sifone, oppure con una pipetta ed il deposito si esamina al microscopio.

**SAPORE.** — Il sapore si apprezza assaggiando l'acqua: esso sarà catramoso se l'acqua abbia attraversato terreni contenenti torba o lignite, amarognolo se contenga solfato di soda o di magnesio: salato se contenga sal comune; astringente se contenga ferro, allume, ecc.

**ODORE.** — L'odore si apprezza allorchè si riscaldi un po' di acqua in una capsula di porcellana e si fintino i vapori. L'odore sarà vario a seconda delle sostanze volatili che essa contiene; per es., di nova guaste quando contenga idrogeno solforato, di putrefazione quando abbia disciolti gas di fogna, di latrine, ecc. Per meglio apprezzare l'idrogeno solforato, si inzuppano delle striscioline di carta bibula in una soluzione di nitroprussiato di soda a cui è stata aggiunta qualche goccia di ammoniacca concentrata e le carte inzuppate si tengono immerse nei vapori che si sprigionano dall'acqua e se vi sia dell'idrogeno solforato libero esse piglieranno una colorazione rosso violacea (Kral H).

**REAZIONE.** — La reazione dell'acqua si manifesta quando si immergano in essa delle cartoline sensibili di laccamuffa azzurre e rosse. Le cartoline bagnate si lasciano esposte all'aria per vedere se, dopo un certo tempo, cambi la reazione.

Si può usare anche, per la ricerca dell'alcalinità, una soluzione 1 % di Touluylenroth, che è sensibilissimo. 2 o 3 gocce di cotesta soluzione in 50 emc. di acqua molto alcalina, colorano il liquido in giallo intenso; in acqua meno alcalina, in arancio; in acqua debolissimamente alcalina, in rosso chiaro. La reazione è manifesta ancora per una quantità di carbonato alcalino 1:100000 (Cavalli).

Le acque potabili sono sempre alcaline o acide, mai neutre.

I dati forniti dai caratteri fisici ci conducono alle seguenti conclusioni:

1° non possono essere dichiarate potabili le acque torbide, colorate, di sapore marcatamente amarognolo od astringente o con odori più o meno disgustosi;

2° non possono essere dichiarate potabili le acque prive di colore, odore e sapore, poichè anche tali, possono essere fortemente corrotte. Difatti, se si classificchino le acque, di varia provenienza, pigliando per base i caratteri fisici, (*acque di sorgenti, acque di pozzi, acque di torrenti, acque di fiumi, acque di laghi ed acque di torbiere*), vediamo che le acque di pozzi, che talvolta sono poco dissimili dalle acque di fogna, occupano un posto molto ele-

vato. Questo è il caso dei pozzi superficiali: quando, cioè, le acque venute in contatto con un terreno lurido per infiltrazioni escrementizie e di spessore non troppo grande, si spogliano delle sostanze sospese e di quelle che le colorano, ma non si possono spogliare delle sostanze organiche che sono passate in soluzione;

3° sono potabili quelle acque che dànno reazione acida appena la cartolina blen di laccamuffa è inzuppata dall'acqua e reazione alcalina dopo un certo tempo che detta cartolina è stata esposta all'aria. La reazione acida, in questo caso, è dovuta all'acido carbonico che si trova in soluzione nell'acqua, il quale, passando nell'aria permette ai carbonati alcalini od alcalino terrosi di esplicare la loro reazione. Un'acqua che dia reazione acida persistente deve essere ritenuta sospetta, come pure sospetta deve essere ritenuta un'acqua che abbia sempre e marcatamente reazione alcalina;

4° un'acqua, per essere potabile, deve avere una temperatura che non sia al disotto di 8° ed al disopra di 18° C.

### Caratteri chimici.

DETERMINAZIONE DELLE SOSTANZE FISSE IN SOLUZIONE. — Le sostanze fisse in soluzione si determinano, facendo evaporare 250 cme. di acqua in un crogiuolo di platino, previamente arroventato e pesato, in un bagnomaria fornito di anelli di porcellana smaltati e slabrati, per non scalfire il crogiuolo; o meglio in un bagno d'aria. L'evaporazione a bagno d'aria si fa nel modo seguente: In una capsula di ferro, abbastanza profonda, si mette un sottile anello di cartone d'amianto e su di questo si poggia il crogiuolo, oppure si sospende il crogiuolo stesso nell'interno della capsula di ferro per



fig. 244.

mezzo di un triangolo di ferro rivestito di platino. Si versa l'acqua nel crogiuolo in modo da occuparne poco più della metà e si riscalda la capsula di ferro con fiamma a gas, in principio bassa, per evitare la perdita di acqua che si avrebbe per lo sprigionamento rapido dei gas disciolti, poi più alta. L'evaporazione, in questo modo, procede regolarmente senza che l'acqua entri mai in ebollizione e quindi senza perdite di sorta.

Durante l'evaporazione, il crogiuolo deve essere tenuto coperto con una specie d'imbuto (fig. 244) il quale mentre permette ai vapori di uscire liberamente dalla parte superiore ed all'acqua condensata di raccogliersi in basso, senza rientrare nel crogiuolo, non permette

al pulviscolo atmosferico di alterare il peso delle sostanze fisse. Quando tutta l'acqua è stata evaporata, si toglie il crogiuolo dal bagno, si netta esternamente con un pannolino, liberandolo dalle sostanze che abbiano potuto aderirvi e si mette in una stufa ad acqua bollente.

Quivi si tiene per un'ora circa, poi si fa freddare in un essiccatore e si pesa; si riporta in stufa e di mezz'ora in mezz'ora si pesa nuovamente, considerando terminata l'essiccazione quando tra una pesata e l'altra ci sia una differenza non superiore a 5 decimi di milligrammo.

La differenza di peso tra il crogiuolo vuoto ed il crogiuolo contenente il residuo dell'evaporazione, dà la quantità di sostanze fisse sciolte in 250 emc. di acqua e seccate a 100° C.

Moltiplicando cotesta quantità per 4 e poi per 100, si ha la quantità di sostanze fisse sciolte in 100.000 parti di acqua, alla quale quantità si possono riferire tutte le determinazioni delle quali anche parleremo in seguito.

Dopo che si è determinata la quantità di sostanze fisse a 100° C., il crogiuolo si porta in una stufa ad aria, riscaldata a 180° e quivi si tiene sino a tanto che si abbia diminuzione di peso, operando nell'identico modo che si è detto per il residuo a 100°. La differenza di peso ottenuta in questa seconda operazione, dà la quantità di residuo a 180°.

È necessario determinare le sostanze fisse a 100° ed a 180° perchè dalla perdita subita a quest'ultima temperatura si possono trarre indizi non privi d'importanza sulla presenza o meno di certe sostanze minerali od organiche.

Così, per es., alcune sostanze minerali amorfe ed alcune sostanze organiche, abbandonano l'acqua igroscopica sopra 100°; il gesso non abbandona la sua acqua di cristallizzazione che tra 100° e 120°; il solfato di magnesio tra 150° e 200°; il cloruro di calcio ed il cloruro di magnesio tra 180° e 200°.

Inoltre le sostanze organiche, che si possono trovare nel residuo, subiscono talvolta una parziale decomposizione e si volatilizzano. Quindi la diminuzione di peso del residuo, lasciato da un'acqua, a 180° può essere causata dalla completa eliminazione dell'acqua di cristallizzazione e dell'acqua igroscopica, come pure dalla decomposizione delle materie organiche avvenuta per il riscaldamento.

Dopo determinato il residuo a 180° C., si riscalda il crogiuolo direttamente con una fiamma a gas fino al rosso nascente, per constatare se il residuo annerisca e se da esso si sprigionino odori caratteristici da farci arguire la natura delle materie organiche presenti.

**LIMITI.** — La quantità di sostanze fisse che deve contenere un'acqua potabile deve esser compresa tra gr. 10 e grm. 50 per 100.000 parti. Al disotto od al disopra di queste quantità le acque devono essere considerate non più potabili, ma minerali.

Sono da preferirsi, per uso potabile e per uso industriale, le acque che contengono pochi sali minerali, sia per non introdurre di questi nell'organismo una quantità superiore alla necessaria, sia per impedire incrostazioni nelle caldaie a vapore, sia per non ostacolare

processi chimici che si effettuano, p. es., nella raffinazione dello zucchero, nella tintura delle fibre tessili, ecc.

### **Durezza.**

Le sostanze fisse, determinate precedentemente, non sono sufficienti per dimostrare la potabilità di un'acqua, riguardo alle sostanze minerali. È necessario scandirle e determinare soprattutto le sostanze terrose in esse comprese e lo stato nel quale si trovano. Ciò si ottiene determinando la durezza *totale*, *temporanea* e *permanente*.

Per durezza di un'acqua si intende la quantità dei sali terrosi neutri, in essa contenuti, capaci di dare dei composti insolubili quando vengano in contatto con una soluzione di sapone. Ora, i sali neutri di calcio e di magnesio formano stearati, oleati, palmitati insolubili e quindi danno composti insolubili col sapone, perchè questo è una mescolanza di sali alcalini degli acidi grassi poco fa nominati. La determinazione della durezza di un'acqua, ovvero dei sali terrosi in essa contenuti, riposa sul fatto che, dibattendo l'acqua, alla quale sia stato aggiunto del sapone, non si ha una spuma persistente se non quando siano stati precipitati tutti i sali ferrosi e vi sia nel liquido un eccesso di sapone indecomposto.

I sali dei metalli alcalino-ferrosi agiscono diversamente sulla soluzione di sapone: primi ad essere precipitati sono i sali di bario, poi vengono i sali di calcio e finalmente i sali di magnesio. Quando in un'acqua abbondano i sali di magnesio, si formano col sapone grumi e pellicole, le quali impediscono la ulteriore e completa decomposizione dei sali di magnesio stessi. Per evitare questo inconveniente è necessario diluire molto l'acqua affinché i sali di magnesio siano ridotti nel liquido alla quantità minima possibile.

**DUREZZA TOTALE.** — *Metodo di Clark.* — Per determinare la durezza totale, si versano in un vaso smerigliato a bocca larga e della capacità di 300 cme. circa, 50 cme. dell'acqua da esaminare; si agita fortemente e si aspira l'aria della bottiglia con un cannello di vetro per rimuovere l'anidride carbonica liberatasi dall'acqua per l'agitazione. Si aggiunge mezzo cme. di soluzione titolata di sapone (1), si agita fortemente e si osserva se si formi

(1) La soluzione titolata di sapone si prepara nel modo seguente: Si trituranò in un mortaio 40 parti di carbonato potassico secco e 150 parti di sapone di piombo; si aggiunge alcool metilico e si tritura fino ad ottenere una specie di latte. Si lascia in riposo per qualche ora, poi si filtra ed il precipitato si lava ripetutamente con alcool metilico. Si determina il numero di cme. necessari per produrre una spuma permanente in 50 cme. di acqua, artificial-

una spuma permanente. Nel caso contrario si aggiunge ancora mezzo cmc. di soluzione di sapone, si agita nuovamente e si ripete questa operazione fino a che, per una lieve aggiunta, si abbia una spuma alta circa 1 cm., e permanente per cinque minuti. Si nota il numero di cmc. impiegati e nell'apposita tabella 37, pag. 536, si troverà la corrispondente durezza.

Nel caso che si conosca approssimativamente la durezza di un'acqua, non si deve aggiungere in una sol volta la quantità di soluzione di sapone richiesta, poichè il risultato non sarebbe esatto come se l'aggiunta fosse fatta gradatamente, nel modo poco fa descritto.

Se la soluzione di sapone, impiegata per produrre una spuma permanente, superi 14,25 cmc., deve rinnovarsi l'esperimento con una quantità più piccola dell'acqua in esame (25 oppure 12,5 cmc.), alla quale siano stati aggiunti una quantità di cmc. di acqua distillata bollita da completare il volume di 50 cmc. La determinazione si eseguisce nell'istesso modo che si è detto dianzi; solo la durezza trovata dovrà essere moltiplicata per 2, per 4 o per quel numero che rappresenta la diluizione. È necessario, in tutti i modi, che l'acqua sia corretta, avvicinando più che è possibile la sua durezza a quella dell'acqua, colla quale è stato determinato il titolo della soluzione di sapone, affinché i risultati siano più prossimi alla realtà (Bomboletti).

Quando la durezza è causata da sali di magnesio, indicati da una leggerezza caratteristica del precipitato, l'acqua si diluirà in modo da non essere richiesti più di 7 cmc. di soluzione di sapone per produrre una spuma permanente in 50 cmc. di acqua.

*Metodo di Faist e Knauss.* — Faist e Knauss hanno modificato il metodo di Clark in alcune particolarità, lasciando intatto il principio su cui è fondato. Invece di 50 cmc. adoperano 100 cmc. di acqua ed una soluzione di sapone (1) di cui sono necessari, per produrre una spuma permanente in 100 cmc. di acqua contenente gr. 0,215 di carbonato di calcio in 1 litro, 45 cmc.

Dal numero di cmc. di soluzione di sapone impiegati per produrre la spuma permanente in un'acqua qualsiasi, si calcola la durezza in gradi tedeschi, ricorrendo alla tabella 38, pag. 537.

mente preparata, e contenente gr. 0,2 di carbonato di calcio per litro, operando nell'identico modo che si è detto per la determinazione della durezza. Si diluisce con soluzione di alcool metilico ed acqua, nella proporzione di 2:1 finchè 14,25 cmc. producano una spuma permanente per 5 minuti, in 50 cmc. dell'acqua tipo.

La soluzione di cloruro di calcio si prepara sciogliendo gr. 0,2 di carbonato di calcio purissimo ed ottenuto per precipitazione, in una capsula di platino, con acido cloridrico diluito. Si scaccia l'eccesso di acido cloridrico, svaporando più volte a secchezza e sciogliendo il residuo in un litro di acqua distillata.

(1) La soluzione di sapone si prepara nel modo seguente: 150 gr. di sapone di piombo si tritureranno in un mortaio di porcellana con 40 gr. di carbonato di potassio: si aggiunge alcool ordinario e si tritura ancora per favorire e completare la reazione. Dopo un po' di tempo, si filtra l'alcool: il filtrato si fa evaporare in bagnomaria fino a secchezza e 20 gr. del sapone residuo si sciolgono in 1 litro di alcool 56 vol. per 100.

La soluzione terrosa testo si prepara come è stato detto dianzi: solo, invece di 0,2 gr. di carbonato di calcio in 1 litro di acqua distillata, si sciolgono 0,215 gr.

TAB. 37.

cm. c. di soluzione di sapone	Ca CO <sup>3</sup> per 100,000	cm. c. di soluzione di sapone	Ca CO <sup>3</sup> per 100,000	cm. c. di soluzione di sapone	Ca CO <sup>3</sup> per 100,000	cm. c. di soluzione di sapone	Ca CO <sup>3</sup> per 100,000	cm. c. di soluzione di sapone	Ca CO <sup>3</sup> per 100,000	cm. c. di soluzione di sapone	Ca CO <sup>3</sup> per 100,000
7	00	3.4	3.77	6.1	7.57	8.8	11.50	11.5	15.63	16.2	19.92
8	16	5	90	2	71	9	65	6	79	3	20.08
9	32	6	4.03	3	86	9.0	80	7	95	4	24
1.0	48	7	16	4	8.00	1	95	8	16.11	5	40
1	63	8	29	5	14	2	12.41	9	27	6	56
2	79	9	43	6	20	3	26	12.0	43	7	71
3	95	4.0	57	7	43	4	41	4	59	8	87
4	1.11	1	75	8	57	5	56	2	75	9	21.03
5	27	2	86	9	71	6	71	3	90	15.0	49
6	43	3	5.00	7.0	86	7	86	4	17.06	4	35
7	56	4	44	4	9.00	8	13.01	5	22	2	51
8	69	5	20	2	14	9	15	6	38	3	68
9	82	6	43	3	29	10.0	31	7	54	4	85
2.0	95	7	57	4	43	1	46	8	70	5	22.02
1	2.08	8	71	5	57	2	61	9	86	6	18
2	21	9	86	6	71	3	76	13.0	18.02	7	35
3	34	5.0	6.00	7	86	4	91	1	17	8	52
4	47	1	44	8	10.00	5	14.06	2	33	9	69
5	60	2	29	9	15	6	21	3	49	16.0	86
6	73	3	43	8.0	30	7	37	4	65		
7	86	4	57	4	45	8	52	5	81		
8	99	5	75	2	60	9	68	6	97		
9	3.12	6	86	3	75	11.0	84	7	19.43		
3.0	23	7	7.00	4	90	4	15.00	8	23		
1	38	8	14	5	14.05	2	46	9	44		
2	51	9	29	6	20	3	32	14.0	60		
3	64	6.0	43	7	35	4	48	1	76		



TAB. 38.

c. c. di soluzione di sapone	Grado di durezza	Differenza	c. c. di soluzione di sapone	Grado di durezza	Differenza	c. c. di soluzione di sapone	Grado di durezza	Differenza
1.4	0	—	16	3.72	0.26	31	7.83	0.28
2	0.15	0.15	17	3.98	0.26	32	8.12	0.29
3	0.30	0.25	18	4.23	0.27	33	8.41	0.29
4	0.45	0.25	19	4.52	0.27	34	8.70	0.29
5	0.60	0.25	20	4.79	0.27	35	8.99	0.29
6	1.15	0.25	21	5.06	0.27	36	9.28	0.29
7	1.50	0.25	22	5.33	0.27	37	9.57	0.29
8	1.65	0.25	23	5.60	0.27	38	9.87	0.30
9	1.90	0.26	24	5.87	0.27	39	10.17	0.30
10	2.16	0.26	25	6.15	0.28	40	10.47	0.30
11	2.42	0.26	26	6.43	0.28	41	10.77	0.30
12	2.68	0.26	27	6.71	0.28	42	11.07	0.30
13	2.94	0.26	28	6.99	0.28	43	11.38	0.31
14	3.20	0.26	29	7.21	0.28	44	11.69	0.31
15	3.46	0.26	30	7.55	0.28	45	12.00	0.31

*Metodo Boutron e Boudet.* — Questo metodo è fondato sullo stesso principio sul quale è fondato il metodo di Clark, cioè sulla proprietà che ha il sapone di trasformare i sali terrosi solubili in sali insolubili degli acidi grassi. Le differenze stanno nei dettagli della determinazione, in una pipetta speciale, che gli autori hanno chiamato *idrotimetro*, ed in un vaso a smeriglio, graduato (fig. 245).

L'idrotimetro è diviso, in un lato, in emc., nell'altro in gradi ed in frazioni di grado idrotimetrico; così 2,4 emc. comprendono 22 divisioni, corrispondenti a 22 gradi di durezza francese. Lo zero gradi idrotimetrici è segnato più in basso del primo tratto circolare, perchè da questo tratto allo zero è compresa una quantità di soluzione di sapone, capace di produrre una spuma permanente nell'acqua distillata, e che non deve esser compresa nel calcolo della durezza.

Il vaso agitatore porta quattro divisioni nel suo corpo, indicanti rispettivamente il volume di 10, 20, 30, 40 emc. con una capacità totale di circa 100 emc.

La determinazione della durezza totale si eseguisce nel modo seguente. Si versano nel vaso agitatore 40 emc. d'acqua da esaminare, e vi si aggiunge poco a poco, per mezzo dell'idrotimetro, riempito fino al tratto circolare superiore, la soluzione di sapone (1).

Si dibatte fortemente e si osserva se si formi la spuma permanente; qualora ciò non avvenga, si aggiunge nuovo sapone, si

dibatte e si prosegue in questo modo fino a che si formi la spuma persistente per 5 minuti. Allora si legge nell'idrotimetro il numero di divisioni di sapone aggiunte e tante saranno le divisioni, tanti saranno i gradi di durezza francese dell'acqua esaminata.

Anche col metodo di Boutron e Boudet si può determinare la durezza permanente, qualora si ottemperi a tutte le regole che sono state prescritte, per la stessa determinazione nel metodo di Clark.

(1) La soluzione titolata di sapone, per il metodo di Boutron e Boudet si prepara nel modo seguente:

Si sciolgono gr. 50 di sapone di olio di oliva, detto di Marsiglia, in 800 gr. di alcool a 90°, scaldando dolcemente a bagnomaria. Si filtra, ed al filtrato si aggiungono 500 emc. di acqua distillata e si determina il titolo di questa soluzione, adoperando un'acqua tipo, la quale contenga in un litro esattamente gr. 0,22 di carbonato di calcio. ovvero, adoperando un'acqua che abbia una durezza, espressa in gradi francesi, di 22. Le prove per la determinazione del titolo della soluzione di sapone si eseguiscano come se si dovesse determinare la durezza di un'acqua, prendendo cioè 40 emc. dell'acqua tipo e versandovi soluzione di sapone fino a che si produce la spuma permanente.

La soluzione sarà bene titolata quando 22 divisioni dell'idrotimetro producano in 40 emc. dell'acqua tipo una spuma permanente per 5 minuti.

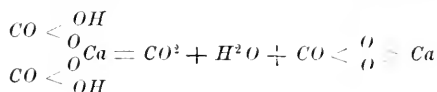


fig. 245.

**DUREZZA PERMANENTE.** — I sali dei metalli alcalino-terrosi, che più frequentemente si trovano nelle acque, sono: bicarbonati, solfati, cloruri e nitrati. Questi sali si possono dividere in due gruppi distinti, cioè in sali che si decompongono per ebollizione dell'acqua e si separano, ed in sali che non si decompongono e rimangono in soluzione. Difatti, se si fa bollire un'acqua che contenga un bicarbonato terroso in soluzione, vedremo depositarsi una polvere formata da carbonato neutro. Siccome è ammesso generalmente che i carbonati terrosi in soluzione nell'acqua, si trovino allo stato di carbonati acidi e che questi sali non si possano ottenere liberi, si può supporre che la reazione avvenga nel modo seguente:

Carbonato acido di calcio

Carbonato neutro di calcio



cioè, decomponendosi un carbonato acido delle terre, si ha carbonato neutro, anidride carbonica ed acqua; il carbonato neutro, essendo pochissimo solubile, si deposita e si separa dagli altri sali terrosi che, per ebollizione dell'acqua, non si decompongono.

Quindi, approfittando di codeste proprietà dei sali terrosi; potremo dividere la durezza totale, in durezza permanente ed in durezza temporanea, cioè in una durezza che permane anche dopo ebollizione dell'acqua ed in una durezza che per ebollizione se ne va.

La durezza permanente si determina facendo bollire, per tre ore, 100 o 200 cmc. di acqua in una capsula della doppia capacità all'incirca e sostituendo, con acqua distillata, man mano, quella che si evapora. Dopo raffreddamento, si versa l'acqua nella bottiglia tarata da 100 o da 200, si porta al segno con acqua distillata, compresi i lavaggi della capsula, si lascia depositare e si filtra per filtro asciutto in un recipiente pulito e secco. Di questo filtrato si pigliano 50 o 100 cmc. e si determina la durezza nel modo detto innanzi. Dal numero di cmc. di soluzione di sapone impiegati per produrre la spuma permanente, si può avere la durezza, ricorrendo alle tabelle.

Nelle acque contenenti molti carbonati terrosi e perciò aventi una durezza permanente piccola, i metodi titrimetrici danno indicazioni superiori, e talvolta anche di molto alla realtà (Carnevali).

**DUREZZA TEMPORANEA.** — La durezza temporanea si ottiene indirettamente, sottraendo dalla durezza totale la durezza permanente; oppure direttamente, approfittando della proprietà che hanno i carbonati terrosi di decomporre i sali d'ammonio in soluzione acquosa e di liberare ammoniaca in quantità proporzionale.

100 cmc. di acqua da esaminare si versano in un pallone di un litro, e si mescolano con 200 cmc. di acqua distillata e con 5 gr. di cloruro d'ammonio.

Il pallone si unisce con un apparecchio a distillazione, si riscalda alla ebollizione, ed i vapori condensati si raccolgono in un matraccio contenente 10 emc. di acido solforico  $N/2$ . Si raccoglie distillato fino a che contenga ammoniacca, ciò che si può constatare, toccando con una strisciolina di carta rossa di tornasole una goccia di liquido che distilla ed osservando se passa al bleu. Quando la cartolina rimane rossa, s'interrompe la distillazione e nel distillato si titola l'eccesso di acido, servendo da indicatore la fenoltaleina. La quantità di ammoniacca distillata, espressa in mmgr, si ottiene moltiplicando il numero di emc. di acido saturati per 8,5; la quantità di carbonato di calcio si calcola, sapendo che a 34 di ammoniacca ne corrispondono 100. Con questi dati riesce facilissimo conoscere la quantità di carbonato di calcio in 100 000 parti di acqua o la durezza temporanea in gradi francesi, moltiplicando il risultato per 2 e poi per 100 (Marpmann).

*Metodo Giorgis-Feliciani.* — La durezza di un'acqua, oltrechè con i metodi citati fino ad ora, può essere determinata col metodo, proposto recentemente da Giorgis e Feliciani. 100 emc. di acqua, messi in un becher, si acidificano con acido cloridrico: si fanno bollire, per qualche tempo, alline di scacciare l'acido carbonico, poi si neutralizza l'acido perfettamente con idrato sodico, servendo da indicatore l'arancio di metile. Si versano poi nell'acqua, così neutralizzata, emc. 10 o più di soluzione  $N_{100}$  di idrato sodico, titolato con arancio di metile, e, dopo di aver fatto bollire, altri emc. 10 o più di soluzione  $N_{100}$  di carbonato di sodio, continuando a far bollire ancora per qualche minuto. Si lascia raffreddare, si filtra in boccetta da 100 e, con i lavaggi, fatti con acqua distillata, si porta a segno.

Di questo liquido ben mescolato si pigliano 50 emc. e si determina in essi l'alcali in eccesso con acido cloridrico  $N_{100}$ . Si moltiplica per 2 il numero di emc. impiegati per questa operazione, si sottrae il prodotto dalla quantità complessiva di alcali aggiunta all'acqua (20 emc. o più) ed il residuo si moltiplica per 5. Il numero di emc., così trovato, corrisponde alla durezza dell'acqua, espressa in gradi francesi.

Cotesto metodo è preferibile a quello di Clark e di Bontron e Boudet, perchè è fondato su di un principio rigorosamente scientifico e dà indicazioni esatte anche quando nelle acque vi siano quantità piccole o grandi di sali terrosi ed anche quando nelle acque vi siano sali di magnesio in predominanza sui sali di calcio. Oltre a ciò le soluzioni titolate, che si richiedono, sono molto meno alterabili delle soluzioni di sapone.

*Grado di durezza.* — Per dare un valore stabile e definito ad un grado di durezza, i francesi hanno preso per base il peso molecolare del carbonato di calcio, i tedeschi invece il peso molecolare dell'ossido. Questi pesi molecolari sono rispettivamente 100 e 56: quindi il grado francese sta al grado tedesco come 100 sta a 56: ovvero come 1 : 0,56. Ora ad un grado di durezza francese si è assegnato un valore corrispondente ad un gm. di carbonato di calcio in 100 litri di acqua, ovvero ad un mmgr. in 100 emc.: ad un grado di durezza tedesco invece a gm. 0,56 di ossido di calcio in 100 litri di acqua, ovvero a gm. 0,00056 in 100 emc. Perciò quando si voglia trasformare i gradi di durezza francesi in gradi tedeschi, basterà risolvere la proporzione:

$$1 : 0,56 :: n \text{ (gradi francesi)} : x$$

e viceversa.

Infine, ad un grado di durezza inglese si è assegnato un valore d'un grano di carbonato di calcio in un gallone di acqua (1) ovvero di un grammo in 70 litri. Quindi il grado francese sta al grado inglese come 1 : 0,70 ed i gradi di durezza adottati dalle tre nazioni si trovano nel rapporto seguente:

Francia	Inghilterra	Germania
1	0,70	0,56

In Italia, come anche in Inghilterra (2), è stato adottato il grado francese, e ciò vale in parte a togliere di mezzo quella confusione generata da questi diversi modi di valutare il grado.

La durezza dovrebbe rappresentare esattamente la quantità di calce e di magnesia contenute in un'acqua; invece essa non rappresenta che la quantità approssimativa; poichè la sua determinazione è affetta da cause di errore che non possono essere evitate coi metodi titrimetrici. È vero che qualche volta la quantità delle terre, trovata col metodo idrotrimetrico, corrisponde molto bene a quella trovata coll'analisi per pesata, ma è pur vero che qualche volta se ne discosta di molto. Queste divergenze devono essere attribuite alla quantità di acido carbonico sciolto nell'acqua, ed alla varia qualità e proporzione delle terre, poichè sappiamo che le acque, contenenti abbondanti quantità di magnesia o piccole quantità di ferro, danno, al saggio idrometrico, risultati molto superiori a quelli calcolati. Col metodo di Giorgis e Feliciani a coteste divergenze si portano correttivi non disprezzabili.

Contuttociò, la determinazione della durezza ha una importanza grandissima nell'esame di un'acqua a scopo sanitario, prima perchè e di facile esecuzione, poi perchè i risultati sono tanto approssimati alla realtà che le differenze non possono influire sul giudizio che si deve trarre sulla potabilità o meno dell'acqua.

Quale influenza ha la durezza di un'acqua sulla nostra salute? In Inghilterra, dove sono stati eseguiti i primi e più completi studii sulle acque potabili, sono stati esaminati gli effetti che producono sulla salute pubblica le acque dure e leggere, prendendo per base la mortalità di intere regioni che bevevano acque di durezza diversa (3). Così fu trovato che in una popolazione di 242,149 persone, vivente in 5 città e che beveva acqua leggera,

(1) Un grano corrisponde a gr. 0,0648; un gallone a litri 4,54346.

(2) Vedi analisi della Commissione inglese.

(3) Sixth Report of the Commissioners..... pag. 184-201.

la mortalità annua raggiungeva la media di 18,5 per 1000: che in una popolazione di 100,439 persone, vivente in 3 città e che beveva acqua moderatamente dura la mortalità annua era di 19,2 per 1000: che in una popolazione di 638,038 persone, vivente in 12 città e che beveva acqua dura, la mortalità annua era di 20,4 per 1000. Le città di ogni singola regione si trovavano in condizioni sanitarie molto diverse, ed ove le buone condizioni igieniche prevalevano, la mortalità era anche più piccola della media generale per regione ed ove i miglioramenti igienici erano stati trascurati la mortalità era superiore. Per la qual cosa, risultava evidente che la durezza o leggerezza dell'acqua non aveva alcuna influenza sulla mortalità, come anche ciò si deduceva dalla mortalità media delle diverse regioni.

La Commissione inglese in base a questi risultati concludeva che mentre le acque di eccessiva durezza possono produrre calcoli e forse altre malattie, acque leggere e dure, se libere di sostanze organiche deleterie, sono egualmente salubri.

Dal lato economico però la considerazione della durezza di un'acqua ha una importanza grandissima, perchè, per es., il sapone non sarà utilizzato per pulire le biancherie se prima una porzione di esso non abbia precipitato tutti i sali di calcio e di magnesio e non abbia resa leggera l'acqua dura: le biancherie che si lavano con acque dure pigliano un colore grigiastro persistente, perchè i sali terrosi degli acidi grassi si depositano dentro e tra le fibre e vi rimangono anche dopo ripetute lavature; le caldaie a vapore, colle acque dure, si incrostano e possono esplodere, perchè la trasmissione del calore dal focolaio all'acqua non si effettua più regolarmente. Soprarisaldandosi la crosta terrosa, l'acqua si fa vapore tutta in una volta e sviluppa una tale pressione alla quale le pareti della caldaia non resistono. Quindi, se dal lato sanitario si può tollerare qualche volta un'acqua anche molto dura, dal lato economico, tale tolleranza porta con sè pericoli non piccoli.

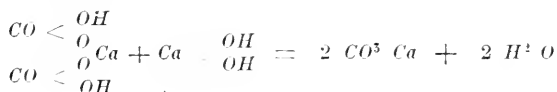
LIMITI. — Tutti gli igienisti convengono nel ritenere non potabile un'acqua che abbia una durezza totale superiore a 35 gradi francesi. A questo limite massimo però si può giungere solo nel caso che la durezza sia formata, in massima parte, di durezza temporanea, perchè è stato dimostrato che il carbonato di calcio non ha alcuna azione dannosa sul nostro organismo. A questo limite non si può arrivare quando la durezza sia formata, in massima parte, di durezza permanente, perchè i sali terrosi, in questo stato, non sono tanto innocui quanto i carbonati.

**Alleggerimento delle acque.**

*Processo di Clark.* — Per rendere leggera un'acqua dura col processo di Clark, è necessario che la durezza sia data da carbonati di calcio e di magnesio, tenuti in soluzione dall'acido carbonico (durezza temporanea).

Per depurare 100 litri d'acqua si deve aggiungere un grammo di ossido di calcio per ogni grado di durezza temporanea, operando nel modo seguente: Si stempera la calce in una secchia d'acqua, ed il latte di calce, così ottenuto, si versa in una porzione dell'acqua da depurare. Si riempie la secchia di nuovo con acqua, si agita per rimuovere il sedimento che è rimasto nel fondo e si versa nuovamente nell'acqua. Si aggiunge poi il rimanente dell'acqua da depurare per mezzo di un condotto e se il tonfo non fa mescolare convenientemente i due liquidi, si adopera un palo di legno o di ferro. Dopo ciò l'acqua apparirà molto lattiginosa ed il carbonato di calcio, che prima era in soluzione e quello che nuovamente si forma per la fissazione dell'acido carbonico sull'ossido di calcio, incominceranno a depositarsi. La reazione avviene nel modo seguente:

Carbonato acido di calcio — Idrato di calcio — Carb. neutro di calcio — Acqua



Dopo un riposo di tre ore, l'acqua sarà abbastanza chiara per essere adoperata per lavanderie, caldaie a vapore, ecc., ma, per bere, è necessario un riposo di 12 ore almeno.

Volendo accertarsi se nell'acqua, così trattata, si trovi idrato di calcio in eccesso che le darebbe cattivo gusto, si approfitta della proprietà che ha il nitrato d'argento di dare un precipitato od una colorazione bruna in presenza di idrato di calcio. Perciò, quando scendono nella vasca le ultime porzioni di acqua tenute in disparte, come è stato detto di sopra, si estraggono di tanto in tanto dei saggi, si filtrano ed il filtrato si raccoglie in un recipiente di porcellana che contenga qualche goccia di soluzione di nitrato d'argento. Se si produca colorazione bruna, vuol dire che la calce aggiunta è in grande eccesso, e deve immettersi ancora acqua dura: se si produca una tinta debolmente gialla, visibile appena, vuol dire che calce ed acqua dura si trovano mescolate in proporzioni esatte; se si produca un precipitato bianco lattiginoso, vuol dire che all'acqua deve essere aggiunto ancora latte di calce.

*Processo Giorgis-Feliciani.* — Il metodo di Clark ci dà la possibilità di togliere ad un'acqua i sali terrosi, in essa contenuti, in forma di bicarbonati, ma non quelli in forma di solfati, cloruri, nitrati, ecc.

Il processo Giorgis-Feliciani si applica invece a tutti i sali terrosi in qualunque forma essi si trovino.

Cotesto processo è fondato sulla proprietà che hanno il carbonato sodico e l'idrato calcico, sia isolatamente, sia unitamente, di precipitare non solo tutti i sali di calcio, ma anche quelli di magnesio.

Difatti, se si esprima la composizione generale di un'acqua colle formole seguenti

1° gruppo	2° gruppo	3° gruppo	4° gruppo
$SO^4 Ca$	$(CO^3)^2 Ca H^2$	$SO^4 Mg$	$CO^3 Na H$
$(NO^3)^2 Ca$	$(CO^3)^2 Mg H^2$	$(NO^3)^2 Mg$	$CO^3 KH$
$Cl^2 Ca$		$Cl^2 Mg$	

si vede che i composti del primo gruppo sono precipitati dal carbonato di sodio; quelli del secondo, dall'idrato di calcio; quelli del terzo, dal carbonato di sodio ed idrato di calcio contemporaneamente



quelli del quarto, non sono precipitati, ma trasformati, dall'idrato di calcio, in idrato di sodio e di potassio, i quali aiutano o sostituiscono l'idrato calcico nella trasformazione dei composti del secondo gruppo.

La quantità dei precipitanti si calcola secondo le indicazioni seguenti :

La quantità di carbonato di sodio da aggiungere ad un'acqua, per privarla completamente dei sali ferrosi, sarà data dalla durezza totale meno l'acido carbonico combinato.

La quantità di ossido di calcio sarà data dall'acido carbonico combinato più la durezza totale, meno la calce totale.

L'acido carbonico combinato si può calcolare approssimativamente sui dati forniti dalla durezza temporanea; la calce totale si può calcolare sui dati forniti dalla durezza totale.

## Alcali.

Per la determinazione dei metalli alcalini nelle acque potabili serve molto bene il metodo proposto da Bollig.

Si evaporano in una grossa capsula di porcellana 500 cme. di acqua fino a 50 cme. circa: si aggiungono 10 gocce o tanto acido solforico concentrato da avere una forte reazione acida e si riscalda, senza far bollire, fino a che si sollevino vapori di acido solforico. A questo punto si è sicuri che l'acido cloridrico, nitrico, ecc. si sono volatilizzati.

Si lascia raffreddare; il residuo si scioglie in 150 cme. di acqua distillata, la soluzione si passa in una boccia della capacità di 200 cme., si tratta con carbonato di bario chimicamente puro e, attraverso il liquido, si fa passare una corrente di anidride carbonica lavata, fino a che dibattendo si constati assorbimento.

L'acido solforico dei solfati è stato trasformato in solfato di barite e tutte le basi combinate all'acido solforico, sono passate allo stato di carbonati acidi. Si filtra, si lava più volte il precipitato ed il liquido si evapora, senza far bollire, e si riscalda poi a 130°-140° C.

Il residuo si digerisce con 50 cme. di una mescolanza a parti eguali, di alcool e di acqua distillata: si sciolgono i carbonati alcalini soltanto.



Si filtra e si titola l'alcalinità con acido cloridrico  $N_{40}$ , servendo da indicatore l'arancio di metile: l'alcalinità si può calcolare in carbonato di sodio, sapendo che ad 1 cmc. di acido  $N_{40}$  corrispondono gr. 0,0053 di carbonato.

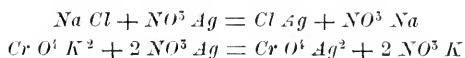
Nel caso che si vogliono separare il sodio dal potassio e pesarli separatamente si procede come è descritto nei trattati di chimica analitica quantitativa.

## Cloro.

Il cloro si trova generalmente nell'acqua come costituente del sal comune: e se perciò la sua quantità non ci può far decidere sulla corruzione o meno dell'acqua, ci può dare nondimeno indicazioni utilissime. Quindi la sua determinazione non deve essere mai trascurata.

*Metodo di Mohr.* — Per la determinazione del cloro, si mettono in un matraccio di cristallo 10 cmc. di acqua, ed alcune gocce di una soluzione di cromato di potassio, esente di cloro, come indicatore. Si posa il matraccio su di un pezzo di carta bianca e, per mezzo di una buretta, vi si versa goccia a goccia una soluzione  $N_{10}$  (1) di nitrato d'argento, fino a che il liquido volga ad un rosso carnicino debole. Questa determinazione è fondata sulla maggiore affinità che ha il cloro per l'argento piuttosto che per il cromo e sul colorito rosso sangue del cromato d'argento. Quindi non si formerà cromato d'argento, ovvero il liquido non si colorerà in rosso carne se prima non sia precipitato tutto il cloro in forma di cloruro d'argento.

La reazione è la seguente:



Verso la fine dell'operazione, il liquido giallo talvolta diviene tanto opalescente, per il cloruro d'argento precipitato, che riesce difficile di percepire con precisione la fine della reazione. Perciò, nei casi nei quali è richiesta una grande accuratezza, si versa nel matraccio, che ha servito per una determinazione approssimativa, un pochino di soluzione di cloruro di sodio, per distruggere la tinta rossa prodotta dal cromato d'argento ed in un altro matraccio si eseguisce un'altra determinazione come si è detto sopra. Comparando la tinta del secondo matraccio con quella del primo, si potrà percepire la colorazione rossa del liquido non appena si manifesta.

Nel caso che l'acqua contenga pochi cloruri, invece che direttamente, la determinazione si farà sopra un litro di acqua, ridotta, per evaporazione, a 100 cmc., per rendere la determinazione più precisa.

Il numero di cmc. di soluzione d'argento, impiegati per precipitare tutto il cloro, moltiplicato per 0,003545 dà la quantità di cloro contenuto in

(1) La soluzione  $N_{10}$  di nitrato d'argento si prepara sciogliendo gr. 16,997 di nitrato di argento puro e cristallizzato in un litro di acqua distillata.

100 cme. di acqua. Moltiplicando questa quantità per mille si ha la quantità di cloro contenuto in 100,000 parti di acqua.

*Metodo Volhard.* — La determinazione del cloro, col metodo di Volhard, si eseguisce nel modo seguente:

100 cme. di acqua si mettono in un matraccio di cristallo e si uniscono con 5 o 10 cme. di soluzione  $N'_{10}$  di nitrato d'argento. Si mescola e si lascia depositare il cloruro d'argento formatosi: poi si aggiungono 5 o 10 gocce di una soluzione di allume di ferro, satura a freddo, e tanto acido nitrico concentrato, privo di acido nitroso, da fare scomparire la colorazione del sale ferrico. Si determina l'argento rimasto in soluzione nell'acqua, facendovi scorrere da una buretta una soluzione  $N/_{10}$  di rodanato d'ammonio (1) fino a che il liquido non assuma una colorazione rosso sangue che persista per 10 minuti.

Sottraendo ora dal numero di cme. di soluzione d'argento aggiunti all'acqua, il numero di cme. di soluzione di rodanato di ammonio occorsi per precipitare l'argento rimasto in soluzione nell'acqua ed in eccesso, per il cloro esistente, si ottiene il numero di cme. di soluzione di argento trasformati dal cloro. Moltiplicando questo numero di cme. per 0,003545, si ottiene la quantità di cloro esistente in 100 cme. di acqua e moltiplicando questa quantità per 1000 si ottiene la quantità di cloro in 100,000 parti d'acqua.

Il metodo di Mohr, ed il metodo di Volhard, quando si seguano le indicazioni date sopra, possono dare risultati egualmente esatti, se specialmente la quantità di cloro nell'acqua non sia troppo piccola.

Il metodo di Volhard può avere la precedenza su quello di Mohr perchè il sale ferrico, adoperato come indicatore, dà una reazione col rodanato d'ammonio che è una delle più sensibili che si conoscono e perchè la determinazione può essere eseguita in mezzo acido. Col metodo di Mohr, si corre rischio di determinare come cloro l'acido carbonico, combinato ai metalli alcalini, a

(1) La soluzione  $N/_{10}$  di rodanato d'ammonio non si può preparare pesando il sale, perchè è deliquescente: ma titolando con soluzione  $N/_{10}$  di nitrato d'argento una soluzione forte di rodanato d'ammonio e calcolando l'acqua che si deve aggiungere per ottenere la soluzione  $N/_{10}$  precisa.

Si sciolgono perciò gr. 8 di rodanato d'ammonio in un litro di acqua distillata e si titola la soluzione con nitrato d'argento, operando come segue: si mettono in un bicchiere 10 cme. di soluzione  $N'_{10}$  di argento, si aggiungono 40 cm. di acqua distillata, 5 gocce di soluzione di allume di ferro e tanto acido nitrico concentrato, privo di acido nitroso, fino a sparizione del colorito del sale ferrico. Da una buretta si fa scorrere nella mescolanza la soluzione di rodanato d'ammonio fino a che il liquido si colora in rosso sangue e la colorazione resti per 10 minuti. Se, per es., per precipitare l'argento di 10 cme. di soluzione  $N'_{10}$  sieno occorsi 9,4 cme. di soluzione di rodanato d'ammonio, vuol dire che in 940 cme. di soluzione di rodanato c'è la quantità di sale che deve essere disciolto in un litro per fare esattamente la soluzione  $N/_{10}$ . Perciò si pigliano 940 cme. della detta soluzione e si allungano fino ad un litro con acqua distillata.

meno che non si abbia l'avvertenza di neutralizzare avanti perfettamente l'acqua.

Il cloro, come costituente del sal comune, non ha alcuna importanza nel giudizio della salubrità di un'acqua; ma quando il cloruro di sodio venga da escrementi animali, allora acquista una importanza straordinaria.

E che il cloruro di sodio possa provenire da escrementi animali lo dimostrano le analisi di 58 campioni di acqua di fogna, eseguite in Inghilterra, ove il cloro vi figura, in media, per 11 parti per 100,000 (1) e le analisi di 11 campioni di acqua di fogna di Milano, ove il cloro vi figura per 2,60 e 4,10 per 100,000; lo dimostrano anche le analisi fatte sull'orina umana ove il cloro vi figura per 58 p. circa per 100,000.

Invece nelle acque potabili la quantità di cloro è sempre piccola. Così l'acqua di pioggia ne contiene in media 0,22 per 100,000; le acque correnti 1,13; le acque di pozzi profondi 5,11; le acque di sorgente 2,49.

Ora, se un'acqua, invece di contenere 1 p. di cloro per 100,000 p., ne contenga 13, possiamo sicuramente dedurre che l'eccesso provenga dall'acqua di fogna. In generale, si potrà dire corrotta un'acqua quando contenga una quantità di cloro molto considerevole e quando altri dati analitici od altri fatti concorrano a confermare la corruzione. Poichè anche le acque naturali che scorrono su terreni ricchi di cloruro di sodio possono contenere una quantità di cloro considerevole, senza essere perciò contaminate.

In tutti i modi, quando un'acqua contenga meno di 1 p. di di cloro per 100,000 p., molto probabilmente è esente da ogni contaminazione.

LIMITI. — Gli igienisti non sono d'accordo nello stabilire la quantità massima di cloro tollerabile in un'acqua potabile. Essa può arrivare a 0,8 per 100,000 p. di acqua, secondo la Commissione di Vienna; a 0,8, secondo le conclusioni prese al Congresso di Bruxelles; a 4,0, secondo il comitato Consultivo di Francia; ed a 3 secondo Kubel e Tiemann.

In generale si può dire che il cloro, come cloruro di sodio minerale, è tollerabile fino a che non dia all'acqua sapore di salmastro; non è tollerabile, nemmeno in quantità piccolissima, quando provenga da sostanze escrementizie animali.

(1) E. FRANKLAND. — *Water analysis*, 1880, pag. 19.

## Acido solforico.

La ricerca dell'acido solforico si fa nel modo seguente: In un comune tubo da saggio si versano alcuni emc. dell'acqua da esaminare, una o due gocce di acido cloridrico puro ed un pochino di una soluzione qualsiasi di cloruro di bario. Dalla quantità del precipitato bianco pesante di solfato di bario, si può dedurre approssimativamente la quantità dei solfati contenuti nell'acqua.

Talvolta però può essere necessario di procedere alla determinazione quantitativa dell'acido solforico ed allora si ricorrerà al metodo per pesata od al metodo volumetrico, più pratico, di Winkler.

Per questa determinazione sono necessarie le seguenti soluzioni: Soluzione  $N/_{10}$  di cloruro di bario (1), soluzione di cromato di potassio contenente 0,8 gr. di cromato in 1 litro, soluzione di nitrato d'argento  $N/_{10}$  come indicatore.

La soluzione di cromato di potassio si titola con cloruro di bario nel modo seguente: in un matraccio, della capacità di 300 emc. circa, si mettono 100 emc. di acqua distillata, 10 emc. di soluzione di cloruro di bario e si riscalda fino all'ebollizione. Senza togliere il matraccio di sopra la reticella, si fa cadere nell'acqua goccia a goccia, da una buretta, la soluzione di cromato fino a che una goccia di acqua, messa in un piattellino di porcellana e toccata con soluzione di nitrato d'argento, dia un precipitato di colore leggermente giallo. Il numero di emc. impiegati per arrivare a questo punto costituiscono il titolo.

Per determinare l'acido solforico nell'acqua, 100 emc. si mettono in un matraccio, della capacità detta di sopra, si trattano con 10 o più emc. di soluzione di cloruro di bario e si fa bollire per 4 o 5 minuti. Quando si è sicuri che tutto l'acido solforico sia stato completamente precipitato e che la quantità di soluzione di bario sia stata sufficiente, si determina nel liquido il bario rimasto in soluzione, aggiungendo soluzione di cromato nel modo detto dianzi.

La fine della reazione è nettissima.

Il numero di emc. di soluzione di cloruro di bario, impiegati per precipitare l'acido solforico, moltiplicati per 0,004 dà la quantità di anidride solforica contenuta in 100 emc. di acqua. Moltiplicando questa quantità per 1000 si ha l'anidride solforica contenuta in 100,000 parti di acqua.

Se l'acqua contenga piccole quantità di solfati, meno di 2 o 3 parti per 100.000, si evaporano 200 o 300 emc. di acqua fino a 100 e nell'acqua concentrata si fa la determinazione, avendo cura di dividere il risultato per 2 o per 3.

(1) La soluzione  $N/_{10}$  di cloruro di bario si prepara sciogliendo gr. 12,126 di cloruro di bario puro e cristallizzato in un litro d'acqua distillata.

Questo metodo, quando si seguano le indicazioni sopra descritte, dà risultati abbastanza esatti, i quali, in generale, concordano con quelli ottenuti col metodo classico per pesata.

La determinazione dell'acido solforico ha importanza, perchè tanto i solfati ferrosi, quanto i solfati alcalini non sono innocui sul nostro organismo e possono essere tollerati solo in quantità piccola.

LIMITI. — La commissione di Vienna ha stabilito che non si possano tollerare in un'acqua più di 6,3 p. di anidride solforica per 100.000 di acqua; il Comitato consultivo di Francia invece ammette una quantità di 0,3 per 100.000; Kubel e Tiemann da 8 a 10 per 100.000.

### Acido fosforico.

Per ricercare l'acido fosforico nell'acqua, si opera nel modo seguente: si evaporano a bagnomaria due litri di acqua, fortemente acidulata con acido nitrico, fino a secchezza. Il residuo si tratta due volte con 50 cmc. di acido nitrico, della densità 1,4, per scacciare tutto il cloro e per decomporre le materie organiche presenti e si evapora fino quasi a secchezza. Si scioglie il residuo con 10 cmc. di acido nitrico diluito, si filtra e nel filtrato si ricerca l'acido fosforico.

In una comune provetta si mettono 3 cmc. di reattivo molibdicco (1), 0,5 cmc. del filtrato e si scalda la mescolanza tra 50° e 60°. In presenza di acido fosforico, si formerà, dopo un certo tempo, un precipitato giallo-occrino, che aderisce alle pareti del tubo ed è formato di fosfomolibdato di ammonio.



Perchè la precipitazione dell'acido fosforico avvenga completamente, è necessario che il reattivo sia in grande eccesso, cioè sono necessarie circa 40 parti di molibdato d'ammonio per 1 parte di acido fosforico.

Questo reattivo ha una grande sensibilità e può svelare tracce di acido fosforico.

L'acido fosforico nelle acque potabili non si trova che rarissimamente e, nel caso, in piccolissima quantità. Invece nelle acque corrotte (acque di fogna, acque di rifiuto delle fabbriche di zucchero, ecc.) si può trovare in discreta quantità; perciò la ri-

(1) Il reattivo molibdicco si prepara sciogliendo 40 gr. di molibdato d'ammonio commerciale in 160 cmc. di ammoniaca, della densità 0,9593, e 240 cmc. di acqua distillata. Questa soluzione si versa, agitando, in 1000 cmc. di acido nitrico della densità 1,12.

Il reattivo, così preparato, si può riscaldare a 60° senza interibirarsi; se ciò non avvenga si aggiunge un po' di acido nitrico concentrato.



Ora, se si mettano insieme 630,30 gr. di acido ossalico, 316,30 gr. di permanganato di potassio, 294,24 di acido solforico ed acqua, si otterrà, come prodotto della reazione, un liquido ove non c'è acido ossalico, o permanganato in eccesso.

Se si sciolgono quindi 0,6303 gr. di acido ossalico puro e cristallizzato in un litro di acqua distillata si avrà la soluzione  $N'_{100}$  e se si sciolgano 0,3163 gr. di permanganato di potassio in un litro di acqua distillata, si avrà la soluzione equivalente a quella di acido ossalico nei rapporti di decomposizione. Le due soluzioni si trasformeranno perfettamente volume a volume, perchè in 10 cme. di soluzione di acido ossalico c'è tanto acido da trasformare completamente il permanganato di potassio contenuto in 10 cme. della soluzione sopra detta.

*Metodo Kubel.* — 100 cme. di acqua si mettono in un matraccio della capacità di circa 300 cme. insieme a 10 cme. di soluzione di permanganato di potassio (1), 5 cme. di soluzione di acido solforico (2) e si scalda, mantenendo la mescolanza in ebollizione per 10 minuti. Si lascia raffreddare e si aggiungono 10 cme. di soluzione  $N'_{100}$  (3) di acido ossalico: il liquido si decolorerà immediatamente e, se una porzione del permanganato sia stato decomposto e sottratto dalle materie organiche, dovrà rimanere nel liquido una quantità di acido ossalico libero equivalente al permanganato di potassio, utilizzato dalle materie organiche. Si tratta ora di determinare questa quantità di acido ossalico: la qual cosa si ottiene, facendo cadere da una buretta nell'acqua, goccia a goccia, la stessa soluzione di permanganato, arrestandosi quando il liquido abbia preso una colorazione rosea leggerissima. Il numero di cme. adoperati in questa seconda operazione rappresentano la quantità di soluzione di permanganato impiegato per ossidare le materie organiche, contenute in 100 cc. di acqua. Con questa quantità, si calcola l'ossigeno consumato per ossidare le materie organiche, sapendo che 10 cme. della soluzione di permanganato

(1) La soluzione di permanganato di potassio si prepara sciogliendo gr. 0,3163 di permanganato in un litro di acqua distillata. Questa soluzione si titola con acido ossalico  $N'_{100}$ , mettendo 100 cme. di acqua distillata esente di materie organiche, in un matraccio della capacità di circa 300 cme. insieme a 5 cme. di acido solforico diluito e 10 cme. di soluzione di permanganato. Si scaldi e si fa bollire per 10 minuti, poi si aggiungono 10 cme. di soluzione di acido ossalico. Nel liquido decolorato si fa cadere, da una buretta, la soluzione di permanganato fino ad una leggera colorazione rosea. La soluzione sarà bene titolata quando 10 cme. di soluzione di permanganato siano completamente trasformati da 10 cme. di soluzione di acido ossalico  $N'_{100}$ , ovvero quando rimanga una colorazione rosea leggerissima nel liquido dopo avere aggiunto 10 cme. di acido ossalico o dopo avere aggiunto una sola goccia di permanganato.

(2) La soluzione di acido solforico si prepara sciogliendo 1 parte di acido solforico concentrato puro, in 3 parti di acqua distillata.

(3) La soluzione  $N'_{100}$  di acido ossalico si prepara sciogliendo gr. 0,6303 di acido ossalico puro e cristallizzato ( $C_2O_4H_2 \rightarrow 2H_2O$ ) in 1 litro di acqua distillata, che contenga 50 cme. di acido solforico concentrato. L'aggiunta di acido solforico è stata consigliata da Riegler (*Zeits. f. analyt. Ch.*, Vol. 35, p. 522) per evitare la decomposizione dell'acido ossalico e la susseguente perdita di titolo.

ganato possono dare gr. 0,0008 di ossigeno attivo. Supponiamo ora che siasi consumati 0,5 cmc. di permanganato: per conoscere la quantità di ossigeno corrispondente si risolverà la equazione seguente:

$$10 : 0,0008 :: 0,5 : x$$

ovvero:

$$x = 0,00004.$$

Moltiplicando per mille il valore di  $x$ , si avrà la quantità di ossigeno consumato per ossidare le materie organiche, contenute in 100,000 parti di acqua.

Qualora poi si voglia conoscere approssimativamente la quantità di materie organiche, si moltiplicherà l'ossigeno per il coefficiente medio 20, nella supposizione (Wood e Rubel) che ad 1 p. di permanganato corrispondano 5 parti di materie organiche.

Il metodo di Kubel ha il pregio di essere molto sensibile, ma non è capace di farci conoscere se le materie organiche, contenute nell'acqua, siano di origine animale o di origine vegetale e non è capace di discernere sostanze organiche da certe sostanze minerali egualmente ossidabili col permanganato di potassio, p. es. nitriti e sali ferrosi. Per ovviare al primo inconveniente, è necessario ricorrere al metodo di Frankland, il quale però è tanto laborioso e richiede tali mezzi, non comuni a trovarsi dovunque, che è bene di trascurarne la descrizione, che, del resto, si può trovare in trattati più estesi. L'interessante è questo, che, determinando il carbonio e l'azoto della materia organica, contenuta nell'acqua, il rapporto  $\frac{C}{N}$  è grande, quando le materie organiche sono d'origine vegetale, è piccolo quando sono d'origine animale. Cioè, se cotesto rapporto è inferiore a 3, la materia organica è sicuramente di origine animale, se 8 o superiore, di origine vegetale. Per i rapporti intermedi, è lasciato in facoltà dell'analizzatore decidere, approfittando di tutti gli altri dati dei quali si suole approfittare nel giudizio della contaminazione di un'acqua. Recentemente, König ha proposto un metodo per la determinazione del carbonio organico nelle acque; metodo ancora troppo laborioso da non potere esser descritto in questo manuale.

Per ovviare al secondo inconveniente, si procede nel modo seguente:

*Se l'acqua contenga nitriti*, se ne acidificano 100 cmc. con acido solforico, si fanno scaldare, con moderato calore, per qualche tempo, affine di scacciare l'acido nitroso o di ossidarlo in acido nitrico, si lasciano freddare e si portano al volume di 100 con acqua, distillata su permanganato di potassio. In questi 100 cmc. si determinano le materie organiche col metodo sopra descritto.

*Se l'acqua contenga sali ferrosi*, si determina prima la quantità totale dell'ossigeno che possono consumare le materie organiche ed i sali ferrosi contenuti in 100 cmc. di acqua, poi nell'acqua stessa si immerge una bacchetta di zinco, allo scopo di trasformare i sali ferrici nuovamente in sali ferrosi e si determina la quantità di ossigeno che l'acqua può consumare dopo questo trattamento. La differenza tra l'ossigeno totale e l'ossigeno consumato



per ossidare i sali ferrosi, in quest'ultima determinazione, ci dà la quantità di ossigeno consumato per le materie organiche.

Nella maggior parte delle acque potabili, la quantità dei nitriti è così piccola da non portare una riduzione notevole nel permanganato e quindi l'errore è trascurabile. I sali ferrosi poi si incontrano raramente e, nel caso, essi sono avvertiti molto bene dal sapore ferruginoso dell'acqua e dal deposito di ossido di ferro che si forma dopo qualche tempo che l'acqua è stata attinta.

Anche l'ammoniaca dei sali ammoniacali può ridurre il permanganato di potassio; ma siccome la quantità di essa, che ordinariamente si trova nelle acque più fortemente corrotte, non arriva che raramente ad 1 p. per 100,000 e siccome questa quantità non ha azione sul permanganato di potassio, anche questa causa d'errore si può considerare eliminata.

Le acque naturali più pure contengono una quantità piccolissima di materie organiche, costituite di sostanze uniche; mentre le acque che traversano terreni luridi o che ricevono rifiuti dell'uomo o di fabbriche industriali, contengono sempre una discreta quantità di sostanze organiche, delle quali alcune sono ossidabilissime, altre poco; alcune volatili, altre fisse; alcune acide ed altre basiche: quasi tutte però ossidabili a caldo con permanganato di potassio.

Le materie organiche nelle acque hanno importanza sanitaria solo perchè possono trasportare germi di malattie infettive e comunicarli a chi ne beva, comunicando le malattie. Quindi la loro determinazione ha un'importanza indiretta straordinariamente grande.

LIMITI. — L'ossigeno consumato per ossidare le materie organiche contenute in 100,000 parti di acqua sta tra un minimo di gr. 0,05 ed un massimo di 0,25. Al disopra di quest'ultima quantità l'acqua deve essere dichiarata sospetta a meno che, per condizioni specialissime, possa consumare una quantità maggiore di ossigeno, mantenendosi sana.

### Ammoniaca.

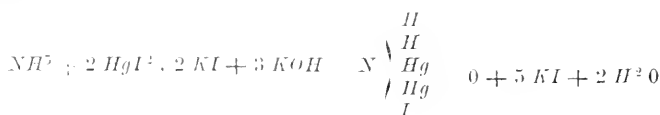
Col metodo di Kubel non si può sapere se le materie organiche determinate, siano di origine animale o di origine vegetale, e tale difetto non permette di pronunziare un giudizio sicuro sulla corruzione di un'acqua, fondandosi su cotesta sola determinazione. Nel caso che non si possa ricorrere al metodo di Frankland o di König, si dovrà diagnosticare la natura della materia

organica, dai suoi prodotti di decomposizione e specialmente seguendo l'azoto nei varii suoi momenti: dall'uscita, cioè, dalla molecola organica, alla ossidazione completa in acido nitrico. E questi prodotti azotati di decomposizione dovranno essere naturalmente più abbondanti in quelle acque corrotte con rifiuti organici animali, che in quelle acque corrotte con materie organiche d'origine vegetale, perchè le sostanze vegetali contengono molto meno azoto delle sostanze animali. Quindi, la ricerca dell'ammoniaca e dell'acido nitroso hanno una importanza sanitaria grandissima, perchè la loro presenza e la loro quantità approssimativa, messa in relazione colla quantità di materie organiche, non solo ci convincerà della corruzione dell'acqua, ma ci farà anche decidere sulla natura delle materie organiche presenti.

La ricerca dell'ammoniaca si fa nel modo seguente:

200 cme. di acqua si frattano con 1 cme. di soluzione di soda caustica 1:4, 2 cme. di soluzione di carbonato di sodio 1:3 e si lascia depositare. Il liquido limpido si versa in un cilindro di cristallo alto circa 20 cent. e stretto, si mescola con 1 cme. di reattivo di Nessler (1) e si lascia in riposo per 10 minuti. Se nell'acqua ci sia una piccolissima quantità di ammoniaca apparirà, in questo tempo, una colorazione giallo-paglierina, visibile specialmente quando il liquido si guardi dall'alto al basso: se ce ne sia una quantità discreta, apparirà una colorazione aranciata, appena si versi nell'acqua il reattivo; se ce ne sia una quantità più che discreta, in relazione si intende della sensibilità del reattivo, si avrà un precipitato giallo arancio.

La reazione che avviene tra il reattivo di Nessler e l'ammoniaca è espressa dalla seguente formula:



Cioè, mettendo insieme il reattivo di Nessler, che non è altro che un ioduro doppio di mercurio e potassio in soluzione alcalina, si forma ioduro di ossimercurammonio che è insolubile nell'acqua ed è fortemente colorato in giallo.

La sensibilità del reattivo è grandissima: una parte di ammoniaca può essere svelata in 100,000,000 di parti di acqua.

(1) Il reattivo di Nessler si prepara nel modo seguente: Si sciolgono 62,5 gr. di ioduro di potassio in circa 250 cme. di acqua distillata; si versa nel liquido, poco a poco, una soluzione satura a caldo di sublimato corrosivo fino a che si formi un leggero precipitato persistente di ioduro mercurico. Si aggiungono 150 gr. di idrato potassico, sciolto nella più piccola quantità di acqua distillata, e si porta tutto ad un litro. Si lascia in riposo qualche tempo e si decanta il liquido giallo chiaro in una bottiglia da potersi chiudere ermeticamente.

Inoltre la reazione è caratteristica per l'ammoniaca, poichè se le ammine primarie e terziarie della serie grassa danno col reattivo di Nessler un precipitato, colle prime esso è di un giallo chiaro, colle seconde è quasi bianco.

Le ammine secondarie grasse e le ammine della serie aromatica, stricnina, morfina, chinina, albumina fresca, ecc., non danno nè precipitato nè colorazione alcuna.

Una discreta quantità di ammoniaca indica una recente e probabilmente una contaminazione in atto con sostanze organiche di rifiuto animale. Difatti, le acque non corrotte o non contengono affatto ammoniaca oppure ne contengono pochissima: solo l'acqua di pioggia raccolta nelle città può contenerne più di 0.10 parti per 100,000: raccolta in campagna invece appena 0,030 parti. Questa ammoniaca derivata dall'aria, è rapidamente assorbita dalle erbe e dalle piante: cosicchè le acque correnti non ne contengono più che 0,002 parti, od una quantità ancora più piccola, in 100,000 di acqua.

L'acqua di fogna, al contrario, contiene sempre una grande quantità di ammoniaca, circa 5 parti in 100,000, e le acque contaminate con essa ne contengono per conseguenza, una discreta quantità.

Nelle acque di pozzi superficiali, corrotte con infiltrazioni di latrine, o di fogne, l'ammoniaca si può elevare ad un massimo di parti 2,75 per 100,000.

Quando l'ammoniaca si trovi in acque di pozzi molto profondi, non si può supporre che essa provenga dalla decomposizione di materie organiche, ma dalla riduzione dei nitrati, avvenuta per opera o di sostanze organiche vegetali sepolte da tempi antichissimi o di sostanze minerali riducenti. Cotesta ammoniaca allora è più distante in tempo dalla materia organica, da cui provennero i nitrati, dei nitrati stessi e quindi priva di ogni importanza sanitaria.

L'ammoniaca nell'acqua si ossida sollecitamente e si trasforma in nitriti e nitrati; quindi è necessario ricercarla appena attinta l'acqua, oppure dopo un tempo non molto lungo.

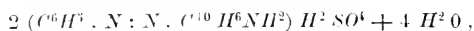
LIMITI. — L'ammoniaca, in generale, non si deve trovare in una buona acqua potabile; si tollereranno tracce o più quando, da ispezioni rigorose, si possa trarre la convinzione che essa provenga o dalla riduzione dei nitrati o dall'aria; non si tollereranno nemmeno tracce quando si abbia il sospetto che essa provenga dalla decomposizione di materie organiche.

## Acido nitroso.

La ricerca dell'acido nitroso, per le ragioni dette dianzi, ha anche una importanza sanitaria grandissima. Essa si fa col metodo di Griess che è il più sensibile ed il più sicuro.

In un cilindro di cristallo, con chiusura a smeriglio, e di una capacità poco superiore a 100 cme., si versano 100 cme. d'acqua da esaminare, 1 cme. di una soluzione di acido solfoanilico (1), 1 cme. di acido solforico diluito 1 : 3; si agita e si lascia in riposo per 15 minuti. Poi si aggiunge 1 cme. di una soluzione scolorata di cloridrato di  $\alpha$ -naftilammina (2), si agita e si lascia in riposo.

In presenza di nitriti, si manifesterà una colorazione rosso-cremisi o immediatamente, oppure dopo un certo tempo, a seconda della loro quantità, per la formazione di un azocolare della formula :



ovvero per la formazione del solfato di azobenzol $\alpha$ naftilammina.

La sensibilità di questa reazione è pure grandissima; si può scoprire una parte di acido nitroso in 1,000,000,000 di parti di acqua. Con tale quantità la reazione si manifesta dopo due ore circa, ma è tale da non lasciare alcun dubbio.

I nitriti hanno la stessa significazione sanitaria dell'ammoniaca. Se, cioè, si trovino in acque di sorgenti o di pozzi profondi, ove non è possibile una qualsiasi corruzione con sostanze organiche di origine animale, vuol dire che essi provengono dalla riduzione dei nitrati, e quindi l'acqua può essere bevuta impunemente. Se però si trovino in acque di pozzi superficiali, di torrenti, di fiumi, vuol dire, molto probabilmente, che esse sono state contaminate con infiltrazioni di latrine, acque cloacali o, in genere, con sostanze organiche d'origine animale. E vuol dire anche che la contaminazione è recente, ma non recentissima, poichè l'azoto comincia ad ossidarsi ed incominciano a scomparire dall'acqua le sostanze riducenti, le quali, nel caso, toglierebbero l'ossigeno non solo all'acido nitroso, ma anche all'acido nitrico preesistente nell'acqua, facendoli passare a composti idrogenati o meno ossidati dell'azoto.

(1) La soluzione di acido solfoanilico si prepara sciogliendo 4 gr. di acido solfoanilico (acido parasolfoanilico  $C^6H^3NH^2 - SO^2H + 2H^2O$ ) in 800 cme. di acqua calda, e, dopo raffreddamento, portando ad un litro. Se la soluzione sia colorata si chiarifica con carbone animale.

(2) La soluzione di cloridrato di  $\alpha$ -naftilammina si prepara sciogliendo 1 gr. di cloridrato di  $\alpha$ -naftilammina pura e fondente a 50° C. in acqua distillata calda e portando ad 1 litro. La soluzione si scolora con carbone animale.

Inoltre se in un'acqua si trovi acido nitroso e non si trovi ammoniacca vuol dire che la corruzione c'è stata ma che è cessata; se si trovi invece ammoniacca ed acido nitroso, vuol dire che la corruzione è continua, perchè una parte della materia organica è già quasi completamente mineralizzata, una parte invece è all'inizio della mineralizzazione.

LIMITI. — Come per l'ammoniaca.

### Acido nitrico.

L'azoto della materia organica si trasforma definitivamente, per ossidazione, in acido nitrico. Ciò indica che la contaminazione è passata e forse che l'azoto nitrico ha appartenuto alla materia organica della stessa natura di quella che attualmente si trova nell'acqua. I soli nitrati indicano che l'acqua è completamente bonificata e la loro quantità sta in rapporto colla materia organica azotata distrutta.

La ricerca qualitativa dell'acido nitrico si fa nel modo seguente:

In un tubo da saggio si versa 1 cme. dell'acqua da esaminare, 3 o 4 gocce di soluzione di solfato di difenilammina (1) e 2 cme. di acido solforico concentrato, facendolo scorrere lungo le pareti del tubo. Se nell'acqua vi siano nitrati, si ottiene un anello colorato intensamente in azzurro nel punto di contatto dei due liquidi. Se si facciano mescolare i due liquidi, si avrà una colorazione azzurra quando nell'acqua vi sia una quantità di nitrati superiore ad 1 parte in 1,000,000 d'acqua (Cimmino R.).

Qualora nell'acqua vi siano piccole quantità di nitrati, la reazione si fa sull'acqua concentrata per evaporazione.

Cotesta reazione ha un valore assoluto quando nell'acqua non vi siano nitriti, poichè l'acido nitroso reagisce sulla difenilammina nel modo stesso dell'acido nitrico.

In questo caso si mettono 100 cme. di acqua in una capsula di porcellana, si acidificano con acido acetico e si fanno bollire per mezz'ora, lasciando sfuggire liberamente i vapori. L'acido nitroso, messo in libertà dall'acido acetico, volatilizza rapidamente e nel liquido rimangono i nitrati indecomposti (2). Si neutralizza il liquido con carbonato di sodio, esente di nitrati, e si porta al volume di 100 cme. con acqua distillata. Sull'acqua, così trattata, si fanno le reazioni sopra descritte che, in questo caso, saranno date esclusivamente dall'acido nitrico.

(1) Il reattivo si prepara sciogliendo un po' di solfato di difenilammina in una soluzione 5% di acido cloridrico.

(2) FERSENIUS — *Zeitsch. f. analyt. Chemie*, XII, 427; XV, 230.

La determinazione dell'acido nitrico si fa col metodo di Schultze e Thiemann, operando nel modo seguente:

Si evaporano a bagnomaria, in una capsula di porcellana, 2 o 3 litri di acqua, a seconda dei casi, fino a 50 emc. circa. Il residuo si filtra in un palloncino della capacità approssimativa di 150 emc. (fig. 246) e si aggiungono le lavature della capsula e del filtro. Al palloncino si adatta poi un turacciolo di gomma a due fori per i quali passano due tubi di vetro ripiegati in basso ad angolo acuto immediatamente al di sopra del turacciolo. Questi tubi si uniscono, mediante gomma elastica, a due altri tubi, uno dei quali termina con un'affilatura ed una ripiegatura in alto e deve servire per condurre il gas nella campanella; l'altro tubo, diritto, serve per introdurre il

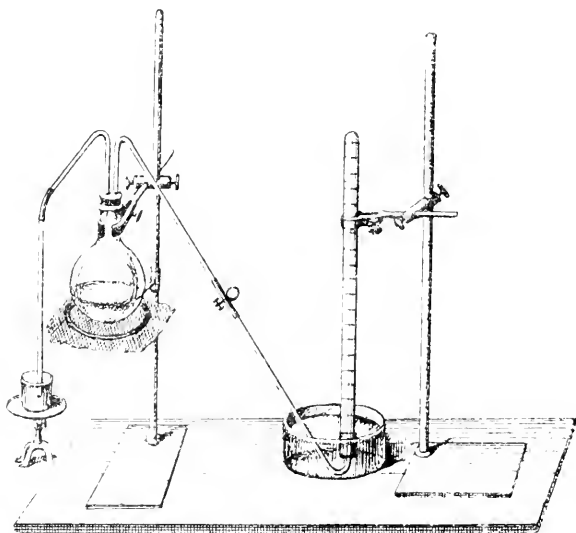


fig. 246.

cloruro ferroso (1) e l'acido cloridrico nel palloncino. Nelle congiunzioni si adattano le pinze per chiudere ed aprire, secondo il bisogno. Per scacciare l'aria dal palloncino e dai tubi laterali, si riscalda l'acqua con un becco Bunsen, tenendo aperte prima ambedue le pinze, poi alternando le aperture e le chiusure quando le estremità dei tubi peschino nei rispettivi liquidi. Allorchè siasi scacciata tutta l'aria, e ciò si conosce dalla completa condensazione dei vapori che escono dai tubi, e l'acqua sia arrivata ad una conveniente concentrazione, si chiudono le pinze, si toglie la lampada e si lascia raffreddare un pochino il pallone nel quale si formerà un vuoto. Poi si fa

(1) Il cloruro ferroso si prepara riscaldando lungamente una certa quantità di bollette di ferro con acido cloridrico in eccesso. È bene che la soluzione di cloruro di ferro sia piuttosto concentrata.

entrare una certa quantità di cloruro ferroso, misto ad acido cloridrico, aprendo la pinza corrispondente. Si riscalda nuovamente e quando il misto di gas e vapore ha raggiunto una tensione superiore alla pressione esterna, si apre la pinza del tubo conduttore, e l'ossido d'azoto si va a raccogliere man mano nella campanella graduata ripiena di una soluzione di soda o di potassa caustica ed immersa in un bagno egualmente di soda o di potassa.

Si deve notare che la maggior parte di ossido d'azoto si sviluppa quando il liquido è vicino a sechezza, se il cloruro ferroso aggiunto non sia molto concentrato.

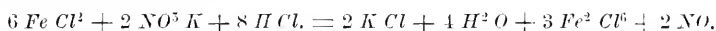
Per evitare poi che una porzione di ossido d'azoto rimanga nel palloncino, si introduce nuovamente cloruro ferroso, si riscalda e si opera come è stato detto dianzi.

Per determinare il volume dell'ossido, si immerge la campanella in un bagno d'acqua in modo che il liquido nell'interno della campanella stia alla stessa altezza del liquido del bagno e lasciandola così per una ventina di minuti. Si legge il numero di cmc. occupati dal gas, si nota la temperatura dell'ambiente e la pressione barometrica del momento e si riduce il volume letto a 0° e 760 mm. di pressione, mediante la formola seguente :

$$V = V^1 \frac{H - F}{760 (1 + \alpha t)}$$

ove  $V$  rappresenta il volume del gas secco a 0° e 760;  $V^1$  il volume del gas umido letto;  $H$  la pressione del momento ridotta a 0° (1),  $F$  la tensione massima del vapore d'acqua alla temperatura del momento,  $t$  la temperatura,  $\alpha$  il coefficiente di dilatazione dei gas (0,00367).

La determinazione dell'acido nitrico è fondata sulla decomposizione dei nitrati per causa dell'acido cloridrico e del cloruro ferroso. La reazione avviene nel modo seguente :



Moltiplicando ora il volume di ossido di azoto a 0° e 760 mm.; per 2,413 si ottiene in milligrammi l'anidride nitrica ( $N^2 O^2$ ) corrispondente e dividendo per 20 o per 30, a seconda che si siano adoperati 2 o 3 litri di acqua per la determinazione, si ottiene la quantità di anidride nitrica in 100,000 parti di acqua.

In modo approssimativo, si può determinare l'acido nitrico nelle acque seguendo le indicazioni di Winkler. In due cilindri della capacità di 50 cmc. si versano in uno 10 cmc. dell'acqua da esaminare e nell'altro 10 cmc. di acqua distillata; si aggiungono poi ad ognuno 1 cmc. di una soluzione 2 % di solfato di brucina e 20 cmc. di acido solforico concentrato purissimo. L'acqua contenente nitrati si colora in giallo, l'acqua distillata non si colora affatto: si fa colare allora da una buretta, graduata in ventesimi di cmc., nel cilindro con acqua distillata tanta soluzione di nitrato di potassio da eguagliare la tinta dell'altro cilindro, aspettando un tempo conveniente per

(1) Per ridurre a 0° l'altezza della colonna barometrica, si divide per il binomio di dilatazione  $1 + kt$ ,  $k$  essendo il coefficiente di dilatazione del mercurio, eguale a 0.0001803.

la stabilità di coteste tinte. La soluzione di nitrato contiene gr. 0,187 di nitrato di potassio secco in 1000 cme. d'acqua ed ogni cme. corrisponde a 0,1 milligrammo di anidride nitrica. Perciò il numero di cme. impiegato per eguagliare le tinte, moltiplicato per 100, dà la quantità di anidride nitrica in milligrammi in un litro d'acqua.

In acque contenenti pochi nitrati si usano 50 cme. di acqua e 100 cme. di acido solforico concentrato ed in determinazioni molto esatte si devono eguagliare i volumi nei due cilindri, aggiungendo al cilindro di acqua in esame tanta acqua distillata quanti i cme. di soluzione di nitrato aggiunti all'altro.

Il metodo di Schultze e Tiemann, in confronto degli altri metodi, è quello che dà risultati più esatti, perchè la reazione non è affatto influenzata da altre sostanze minerali od organiche che possono trovarsi nell'acqua: e perchè le cause d'errore sono tutte trascurabili.

Un'acqua che contenga una grande quantità di nitrati si potrà dire corrotta se contemporaneamente contenga molte materie organiche. Perciò una grande quantità di nitrati potrà essere tollerata in un'acqua di pozzo profondo, di sorgente, ma non può essere tollerata in un'acqua di pozzo superficiale, la quale acqua, per lo meno, dovrà essere ascritta alla categoria delle sospette.

La quantità dei nitrati nelle varie acque è molto diversa, per ragioni soprattutto locali. Così l'acqua di pioggia contiene più nitrati quando è raccolta in vicinanza delle città e meno quando è raccolta in campagna. Settanta campioni raccolti a Rothamstead, 25 miglia distante da una grande città, contenevano da 0 a 0,04 con una media di 0,007 di azoto nitrico in 100,000 parti.

I nitrati dell'acqua di pioggia possono essere rapidamente assorbiti dalle erbe e dalle piante quando scorrono su terreni non concimati, e perciò le acque defluenti da cotesti terreni o non ne contengono affatto oppure ne contengono piccola quantità: in media 0,009 per 100,000. Le acque invece che corrono su terreni coltivati contengono una quantità di azoto nitrico che va assai raramente da 0 ad 1 con una media di 0,25 per 100,000 parti.

LIMITI. — Sul limite massimo di anidride nitrica tollerabile in un'acqua, gli igienisti sono molto discordi. Si va, cioè, da un minimo di 0,4 per 100,000, ammesso dalla Commissione di Vienna e da Reichardt, ad un massimo di 2,7 ammesso da Fischer. Kubel e Tiemann ammettono un massimo di 1,5 che rappresenta quasi la media degli estremi sopra notati. In generale, si po-



tranno tollerare anche quantità relativamente forti di nitrati, quando l'acqua non contenga ammoniaca, acido nitroso o materia organica abbondante. Poichè i nitrati, che rappresentano la completa mineralizzazione dell'azoto organico e che perciò non offrono alcun pericolo indiretto per la trasmissione di malattie infettive, possono essere tolti al terreno, ove si trovano sepolti probabilmente da tempo immemorabile. Le acque che traversano il sottosuolo delle grandi città, contengono molti nitrati, ma contemporaneamente molte materie organiche e molto acido nitroso.

### Metalli nocivi.

Alcune acque disciolgono o disgregano il piombo delle condotture e lo zinco delle casse di distribuzione o di conservazione, altre non lo disciolgono. Alla prima categoria appartengono le acque leggere, alla seconda categoria tutte le acque dure per carbonato di calcio.

#### Piombo.

Per ricercare il piombo, si opera nel modo seguente: Si riempie d'acqua da esaminare un cilindro di cristallo, piuttosto alto (fig. 247) e si posa sopra un foglio di carta bianca. Si acidifica l'acqua con qualche goccia di acido cloridrico e si tratta con soluzione di idrogeno solforato. In presenza di piombo, l'acqua assumerà un colorito bruno più o meno intenso, a seconda della quantità in essa contenuto.

Per ricercare piccole quantità di piombo, Eerntrop consiglia di trattare 3 litri d'acqua con una quantità sufficiente di fosfato di soda, di agitare fortemente e di lasciare in riposo per 24 ore. Durante questo tempo, insieme colla calce e colla magnesia, precipitano anche le più piccole quantità di piombo. Il precipitato si raccoglie su di un filtro, si scioglie in acido nitrico; si fa evaporare la soluzione a bagnomaria per scacciare tutto l'acido, si ripiglia il residuo con acqua e nella soluzione si praticano tutte le reazioni caratteristiche del piombo. Si dovrà avere, cioè, un precipitato nero con idrogeno solforato, un precipitato bianco cristallino, pesante, con acido solforico.



fig. 247.

Antony e Benelli (1) propongono di determinare il piombo nel modo seguente: Ad un determinato volume di acqua si aggiunge un po' di cloruro mercurico e di cloruro ammonico, e si tratta con idrogeno solforato per precipitare il mercurio ed il piombo. Il precipitato si raccoglie su di un filtro, del quale siano note le ceneri, si lava accuratamente, si secca e si incene-

(1) *Gazzetta chimica italiana*, 1896, p. 218.

risce in un crogiuolo di platino. Il solfuro di mercurio si volatilizza, il solfuro di piombo resta, qualora si abbia cura di far passare durante l'incenerimento, idrogeno solforato. Il piombo si può pesare o sotto forma di solfuro, o sotto forma di solfato, nel quale caso, dopo l'incenerimento, si aggiunge acido solforico, si evapora e si calcina. Cotesto metodo dà risultati eccellenti e può servire per determinare piccolissime quantità di piombo.

### Zinco.

Per ricercare piccole quantità di zinco, si può adoperare il metodo di Berntrop. Il precipitato ottenuto con fosfato di soda si scioglie in acido nitrico, si fa evaporare l'acido, si aggiunge cloruro ammonico ed ammoniaca in eccesso si filtra, se necessario, e si tratta con solfuro d'ammonio. Lo zinco precipita in forma di solfuro bianco, il quale, riscaldato su lamina di platino, dovrà apparire giallo a caldo e bianco a freddo.

Secondo le esperienze di Hundeshagen e di Carnevali, le acque potabili ordinarie non disciogliono affatto zinco, anche quando siano messe in contatto lungamente con questo metallo. Solo diminuisce in esse la quantità delle sostanze ferrose in soluzione ed il metallo è attaccato superficialmente, formandosi una patina di sali insolubili e probabilmente di carbonato basico. L'acqua distillata però e piovana disciogliono lo zinco come disciogliono il piombo.

*Solubilità del piombo o dello zinco nelle acque.* — Per conoscere se un'acqua sciogla il piombo o lo zinco, si mette, appena attinta, in due cilindri di vetro alti circa 12 eme., larghi 4 e da potersi chiudere con tappo smerigliato. In uno si immerge una lista di piombo puro, di 11 eme. di lunghezza, resa lucente con carta vetrata, lavata accuratamente con acqua, asciugata e strofinata fortemente con un panno; nell'altro cilindro si immerge una lista simile di zinco puro, egualmente trattata. I due cilindri si chiudono ermeticamente e si mettono in luogo oscuro. Dopo 24 ore, nell'acqua, contenuta nei cilindri, si ricerca il piombo e lo zinco nel modo detto di sopra.

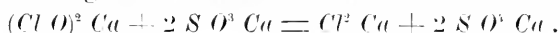
### Sostanze sospese.

Le sostanze sospese si determinano nel modo seguente: 2 o 3 litri di acqua da esaminare si mettono in un matraccio da potersi chiudere e che si riempie completamente colla detta quantità di liquido. Si chiude e si mette in luogo fresco per far depositare completamente le sostanze sospese, ciò che richiede talvolta qualche giorno. Dopo ciò, si filtra l'acqua attraverso un filtro di carta Berzelius, pesato secco in un pesafiltro, e tutto il deposito si fa passare accuratamente sul filtro, lavando poi con acqua distillata. Il filtro col deposito si rimette nello stesso pesafiltro, si fa seccare in una stufa a 100° C., si fa freddare e si pesa. La differenza fra la prima e la seconda pesata dà la quantità di sostanze sospese contenute in 2 o 3 litri d'acqua. Dividendo cotesta quantità per 2 o per 3 e moltiplicando per 100 si ha la quantità di materia sospesa in 100,000 parti di acqua.

### Sterilizzazione delle acque inquinate.

CON CLORURO DI CALCE. — Traube ha proposto di rendere sterile un'acqua, trattandola con una soluzione di cloruro di calce. Bassenge ha modificato il metodo di Traube, aumentando il cloruro di calce in modo da avere una sterilizzazione più efficace e più pronta. Si procede nel modo seguente: 20 gr. di cloruro di calce del commercio, sciolti in poca acqua, si versano in 100 litri d'acqua da sterilizzare; si agita e si lascia in riposo per 30 minuti.

Il cloruro di calce eccedente, che dà all'acqua cattivo sapore, si elimina aggiungendo, per piccole porzioni, una soluzione concentrata di solfito di calcio, fino a che, assaggiando l'acqua, non si senta più alcun sapore disgustoso. La reazione avviene nel modo seguente:



Si lascia depositare e l'acqua limpida potrà essere bevuta impunemente, poichè in essa non si trovano più microrganismi patogeni: solo avrà un grado di durezza maggiore, per avere acquistato un po' di cloruro di calcio e di solfato di calcio.

Bassenge ha trovato che una quantità di cloruro di calce contenente gr. 0,0652 di cloro attivo, sciolto in un litro d'acqua, fortemente inquinata con batteri patogeni, sterilizza in 12 minuti e che una quantità, contenente gr. 0,0978 di cloro attivo, sciolto in un litro d'acqua, sterilizza in 10 minuti.

Dunbarn e Zirn affermano che il miglior disinfettante delle acque è il cloruro di calce. Per disinfettare le acque di fogna, è sufficiente 1 gr. di cloruro di calce per 20 litri d'acqua.

Proskauer ed Elsner, invece, affermano che per sterilizzare le acque di fogna sono sufficienti da gr. 12 a 15 di cloruro di calce per metro cubo con un contatto di 10 minuti.

In generale, si può dire che il cloruro di calce sterilizzerà le acque con tanta minor quantità e con tanta maggiore celerità quanto maggiore sarà la quantità di cloro attivo in esso contenuto.

Per disinfettare piccole quantità di acqua, per uso familiare o per truppe in marcia, Schunburg raccomanda una soluzione di bromo preparata nel modo seguente: bromo gr. 22,00, bromuro di potassio gr. 20,00, acqua gr. 58,00. Di questa soluzione si versano 0,2 cme. in un litro d'acqua (0,06 di bromo), si rimescola, si lascia in riposo cinque minuti e si neutralizza il bromo in eccesso, aggiungendo una compressa formata di gr. 0,095 di bisolfito di sodio, 0,04 di carbonato di sodio e di un po' di mannite.

0,06 gr. di bromo ed anche quantità maggiori sembra che non sterilizzino completamente le acque, come Schunburg pretende.

### Norme per giudicare della potabilità di un'acqua.

Chiunque è chiamato a dare un giudizio sulla potabilità di un'acqua deve tener conto, prima di ogni altro, delle condizioni geologiche della sorgente o, più generalmente, del luogo di presa; poi dei caratteri organolettici e della composizione chimica.

Le acque sorgive devono avere origine profonda, non devono intorbidarsi nelle piogge e non devono essere originate da corsi d'acqua che qualche volta si perdono nelle cavità delle rocce per riapparire in altro luogo. Le sorgenti, alimentate da falde acquifere superficiali, devono essere ritenute sospette quando specialmente il terreno, formante il bacino, è molto permeabile, molto fessurato e concimato. In questo caso, le acque meteoriche arrivano allo strato impermeabile senza essere sufficientemente filtrate e possono portare seco i germi di malattie infettive o le uova di entozoi che talvolta trovansi nel letame sparso o nelle defecazioni di animali pascolanti.

Per le acque di pozzi, scavati nelle campagne, valgono le stesse considerazioni fatte per le sorgenti. Invece per le acque di pozzi, scavati nell'interno delle città o in vicinanza di luoghi abitati, si deve esser certi che la falda acquifera, che alimenta il pozzo, non abbia comunicazione col sottosuolo della città, da cui possa derivarne gli scoli luridi, e che non sia molto vicino a latrine filtranti o fogne mal costruite. In ogni caso, le pareti del pozzo devono essere assolutamente impermeabili per non permettere stillicidi di sorta.

Le acque di fiumi o di torrenti, che si vogliono utilizzare come potabili non devono ricevere rifiuti di fabbriche industriali od acqua di fogna prima del luogo di presa, salvo il caso, nel quale l'immissione sia fatta ad una distanza molto grande da permettere alla materia organica di ossidarsi completamente, oppure che l'immissione di coteste acque sia fatta dopo essere state depurate, sterilizzate o rese innocue con procedimenti speciali.

Una volta noto lo stato della sorgente o della presa, si dovrà tener conto delle proprietà fisiche e della composizione chimica dell'acqua.

Essa deve essere scolorata, limpida, priva di odore e di sapore e deve avere una temperatura non inferiore ad 8 e non superiore a 18° C. Quando non soddisfi alle condizioni su esposte, ovvero quando l'acqua sia torbida, colorata od abbia cattivo sapore, si può sospettare che essa sia stata corrotta con materie di rifiuto animale e che non abbia attraversato uno strato di

terreno sufficiente per purificarsi completamente. In questo sospetto, deve essere dichiarata non potabile, salvo il caso nel quale il colore ed il sapore le provenga dal carbone fossile, dalla lignite o dalla torba, che essa abbia attraversato, e che le materie sospese siano esclusivamente formate di polvere minerale, facilmente eliminabili per filtrazione.

Le sostanze in soluzione non devono, in generale, oltrepassare i limiti seguenti, riferiti a 100.000 parti di acqua:

1° 50 parti di residuo solido;

2° 35 gradi di durezza totale, espressa in gradi francesi: durezza totale data però, in massima parte, da carbonati;

3° 3 parti di cloro;

4° 8 parti di anidride solforica;

5° 1,5 parte di anidride nitrica;

6° zero ammoniaca ed acido nitroso, oppure soltanto tracce;

7° 5 parti di materie organiche, corrispondenti a 0,25 di ossigeno attivo.

Inoltre, le analisi fatte in epoca di secca e dopo piogge non devono mostrare aumento di materia organica, od acquisto di ammoniaca e di nitriti, specialmente nelle falde acquifere poco profonde. In tutti i casi, è bene di tener conto della contaminazione passata, che ci è data dalla presenza e quantità di nitrati, nitriti ed ammoniaca e della contaminazione recente o attuale, che ci è data dal numero di microrganismi e dalla quantità di materie organiche.

Si capisce facilmente che le cifre, costituenti i limiti, non sono una cosa assoluta, ma rappresentano semplicemente una guida generica, alla quale dovrà attenersi chi avrà l'incarico di giudicare della potabilità di un'acqua.

Alle deficienze di cotesti limiti ed ai casi speciali deve supplire il criterio dell'analizzatore o dell'igienista, poichè l'essere o non potabile un'acqua non dipende dall'eccedenza o non eccellenza di uno dei costituenti dal limite stabilito, ma dal complesso di tutti i caratteri intrinseci ed estrinseci, ovvero dalla fisionomia dell'acqua. Per la qual cosa, non sarà un errore sanitario permettere l'uso di un'acqua che contenga, per es., un pochino più che tracce di ammoniaca o di acido nitroso, quando dal complesso risulti che cotesta ammoniaca e cotesto acido nitroso provengono dal regno minerale e non dai prodotti di decomposizione delle materie organiche; non sarà un errore sanitario passar sopra ad un pochino più di anidride nitrica quando nell'acqua ci siano piccola quantità di materie organiche e niente ammoniaca ed

acido nitroso e finalmente non sarà errore concedere un po' più di cloro quando esso provenga dal cloruro di sodio minerale. Invece, sarà un errore gravissimo permettere acque che contengano una quantità di cloro, per es., al disotto del limite, quando questo provenga da liquidi escrementizi animali, quando l'ammoniaca e l'acido nitroso provengano dalle materie organiche in disfacimento e quando l'acido nitrico sia accompagnato da molte materie organiche.

Dunque, non è dalla quantità sola delle sostanze contenute nell'acqua, che dipende la sua potabilità, ma dalla loro provenienza che, in ogni caso, si tenterà di scoprire, esaminando minuziosamente la sorgente, la condotta ed il luogo di presa, e mettendo in relazione il risultato di questo esame con quelli ottenuti dall'analisi chimica, e dalle analisi microscopica e batteriologica (V. *Microscopia, Batteriologia e Igiene del suolo e dell'abitato*).

## ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE.

Gli alimenti di origine animale occupano il primo posto nella alimentazione, sia per la quantità di azoto assimilabile che contengono, sia per la loro facile digeribilità. E siccome cotesti preziosi alimenti facilmente si alterano e possono esser causa di avvelenamenti, e siccome sono soggetti a non poche sofisticazioni per le quali diminuisce il loro valore nutritivo, è necessario di imparare a conoscere le une ed a scoprire le altre.

### Carne.

**ALTERAZIONI.** — La carne sana è di un color vermiglio vivo; è dura, elastica; alla pressione non dà alcun liquido e la mano non prova sensazione di freddo o d'untuosità. Ha reazione anfotera.

La carne alterata, invece, è scolorata, violacea o nerastra, appiccaticcia alla mano, leggera e spugnosa. Compresa, lascia uscire un liquido viscoso, che ha reazione decisamente alcalina. L'odore non è più naturale, ma disgustoso e ricorda quello della putrefazione.

Per conoscere la carne alterata, se ne saggia la reazione colle cartoline di tornasole rosse.

Eber ha proposto una reazione per distinguere le carni sane dalle carni malate e specialmente tubercolose, fondata sul fatto che i muscoli e i reni nei bovini sani, trattati con acido solforico diluito, danno idrogeno solforato, mentre le glandole ileocolonbari non lo danno affatto. Le stesse glandole però danno idrogeno solforato quando abbiano appartenuto ad animali tubercolosi.

**SOSTITUZIONI.** — Le carni di bue e di maiale, vendute a più caro prezzo di tutte le altre carni di animali da macello, sono spesso sostituite con carni inferiori e specialmente colla carne di cavallo, mulo od asino, che più ad esse si avvicinano per i caratteri esterni.

La carne dei solipedi non si differenzia da quella di bue e di maiale che per un debole sapore dolciastro, comunicatole dal glicogeno contenutovi in discreta quantità. Quindi la proscrizione che le si dà comunemente dal novero delle sostanze alimentari, è ingiustificata e dipendente unicamente da un pregiudizio e da una ripugnanza che non ha base nei fatti. E quanto ciò sia vero si deduce dalla tabella 39, ove è messa in confronto la composizione della carne di alcuni animali scelti tra i magri.

Da essa si vede chiaramente che la sostanza azotata nella carne di cavallo è superiore a quella contenuta in tutte le altre carni da macello.

Per queste ragioni e perchè la carne di cavallo può essere venduta ad un prezzo molto basso e può formare la base della alimentazione azotata del popolo, che si nutrice quasi esclusivamente di vegetali, è consigliabile l'uso della carne di cavallo, ma contemporaneamente si deve impedire che essa sia venduta come carne di bue e di maiale.

Per distinguere la carne dei solipedi dalla carne di bue o di maiale, si ricerca il glicogeno, il quale si trova raramente ed in condizioni speciali nella carne di bue, non si trova affatto nella carne di maiale e di pecora adulti.

TAB. 39.

Specie della carne.	Acqua	Sostanza azotata nella carne fresca	Grasso	Sostanza non azotata	Ceneri	Sostanza azotata nella carne secca
Bue - media di 42 analisi . . . . .	72.03	20.96	5.41	0.46	1.14	74.95
Vacca . . . . .	70.96	19.86	7.10	0.81	1.07	69.56
Vitello - media di 9 analisi . . . . .	72.34	18.83	7.41	0.07	1.33	68.87
Pecora - " " 8 " . . . . .	73.99	17.11	5.77	—	1.33	71.57
Maiale . . . . .	72.57	20.25	6.81	—	1.10	73.87
Cavallo. . . . .	74.27	21.71	2.55	0.46	1.01	85.69

Il glicogeno è una sostanza idrocarbonata, isomera dell'amido col quale ha comune la formola di composizione:  $C^6 H^{10} O^5$ . Il glicogeno si scioglie abbastanza bene nell'acqua, dando un liquido lattiginoso, opalescente, che devia a destra il piano della luce polarizzata.

La soluzione di glicogeno, trattata con tintura di iodio, si colora in rosso bordeaux; il calore ed un eccesso di glicogeno fanno scomparire il colore. La potassa caustica altera poco il glicogeno a caldo; gli acidi minerali diluiti invece lo convertono prima in una varietà di destrina, poi in glucosio.

RICERCA DEL GLICOGENO. — *Metodo Brüntigam-Edelmann.* — La ricerca del glicogeno si fa col metodo di Brüntigam ed Edelmann, leggermente modificato. Si spezzettano, cioè, 50 gr. di carne e si fanno cuocere lungamente con acqua, in una capsula di porcellana, dopo avere alcalinizzato leggermente il liquido con carbonato di sodio. Quando la carne è molto cotta, ovvero quando si è sicuri che la massima parte del glicogeno, contenuto nella carne, sia passato nel-

L'acqua, si filtra il brodo per carta, si fa concentrare a bagnomaria fino a ridurlo a piccolo volume e si saggia con tintura di iodio molto diluita (0,25 gr. di iodio, 0,5 di ioduro di potassio e 100 di acqua). Si mette, cioè, un po' di brodo in un tubo da saggio e si versa in esso la tintura tenendo il tubo molto inclinato, affinché i due liquidi non si mescolino, ma si sovrappongano. Si raddrizza il tubo e nel punto di contatto dei due liquidi si produrrà un anello, colorato in rosso bordeaux, nel caso che la carne sia di cavallo, asino e mulo, non si produrrà alcun anello, nel caso che la carne sia di bue, di maiale, di pecora, ecc.

Qualora il brodo sia troppo alcalino, per un eccesso di carbonato aggiunto, prima di far la prova del glicogeno è bene di neutralizzarlo con acido acetico. Altrimenti, la tintura di iodio non reagisce sul glicogeno se non quando abbia trasformato in ioduro il carbonato di sodio. Quindi ne verrebbe una diluizione eccessiva del liquido ed una reazione debolissima e qualche volta anche nulla.

Nella carne dei bovini non si trova ordinariamente glicogeno: però, se essa provenga da animali nutriti con barbabietole (Tonzig) o con sostanze ricche di grasso (Desgrez-Bouchard) può contenerne quantità abbastanza elevate, fino ad 1% e più. Queste si possono considerare vere eccezioni, perchè è noto che nella razione ordinaria dei bovini la barbabietola e le sostanze contenenti molti grassi non possono entrarvi che per una piccola porzione.

Per ricerche più rigorose e scrupolose è necessario ricorrere alla determinazione quantitativa del glicogeno col metodo di Niebel, la cui descrizione non può trovar luogo in questo manuale.

### Preparati di carne di maiale.

I preparati di carne di maiale (salsiccie, salami, mortadelle, ecc.), oltre all'aggiunta di carne di solipedi sono soggetti ad altre sofisticazioni, quali, p. es., l'aggiunta di fecole o farine; l'aggiunta di materie coloranti rosse, di antisettici e specialmente di acido boric.

RICERCA DEL GLICOGENO. — *Carne di solipedi.* — Per ricercare la carne di solipedi, si deve ricercare il glicogeno: perciò si libera il muscolo dal grasso nel miglior modo possibile, si tagliuzzo finamente e si riscalda in apparecchio a ricadere con potassa alcoolica 8%. La carne muscolare, il grasso si sciogliono completamente, il glicogeno e l'amido rimangono indisciolti. Si filtra per carta, si lava il residuo rimasto sul filtro, più volte, con alcool concentrato e freddo, per eliminare le sostanze estranee; poi si tratta con alcool concentrato e bollente, per sciogliere in parte il glicogeno e lasciare indisciolto completamente l'amido. Il filtrato si evapora in bagnomaria; il liquido si ripiglia con acqua e sulla soluzione si fa la reazione del glicogeno, come è stato detto per la carne (Bujard-Mayrhofer). Qualora si voglia determinare quantitativamente il glicogeno e l'amido nell'istesso preparato, si ricorre al metodo di Mayrhofer, che dà risultati molto buoni.

Nei preparati di carne il glicogeno va lentamente decomponendosi (Battelli e Tonzig), tanto che nelle salsiccie di assoluta carne di cavallo esso non si riscontra più dopo cinquanta o sessanta giorni al massimo dalla loro



preparazione. Perciò, la ricerca della carne di solipedi nei preparati, si deve fare nei primi giorni della fabbricazione di questi.

**REAZIONE BIOLOGICA.** — La reazione è fondata sul fatto, omai ben constatato che, *inoculando ad un animale una soluzione di una sostanza albuminoide, si ottiene un siero, dal suo sangue, capace di produrre un precipitato nelle soluzioni della stessa sostanza albuminoide* (Bordet, Tschistowitsch, Fisch, Myers, Uhlenhuth, Wassermann, Schütze, Ruppin).

Il siero si prepara inoculando nel peritoneo a' conigli il liquido ottenuto, per compressione a 200 o 250 atmosfere, con tutte le regole di asepsi, dalla carne, per la quale si vuol preparare l'animale. 7 iniezioni di circa 20 emc. alla distanza di una settimana sono sufficienti per avere un siero molto attivo, per la carne di cavallo.

La reazione si pratica in modo diverso a seconda che, p. es., si debba conoscere se una carne fresca sia di cavallo, oppure se in un preparato di carne di maiale ci sia carne di cavallo.

**Carne fresca.** — La carne si sminuzza e si sottopone ad una pressione di 200 o 250 atmosfere; il liquido raccolto si diluisce con 5 o con 25 parti di soluzione di cloruro di sodio 0,8 ‰ e si filtra per filtro Berkefeld. Nel caso che la soluzione sia acida, si neutralizza con soda, per evitare la formazione di precipitati spontanei, e 4 emc. di questo liquido si trattano con 0,2-0,4-0,8 emc. di siero di sangue e si lasciano per qualche ora in riposo. Nel caso che la carne sia di cavallo ed il siero provenga da animale iniettato con succo di carne di cavallo, dopo un tempo, più o meno lungo, si ha nelle mescolanze su dette prima intorbidamento, poi fiocchi e finalmente un deposito. I succhi di carne da soli o mescolati con siero di conigli non iniettati, non danno intorbidamento o precipitato alcuno, anche tenuti per molte ore in termostato a 37° C.

Si deve avvertire che, facendo la reazione sulla diluizione 25 ‰, a 2 emc. si deve aggiungere ancora una goccia di soluzione 1 ‰ di carbonato di sodio.

La reazione è molto sensibile, perchè è capace di dare dei fiocchi dopo un'ora, ed un deposito dopo due ore in un succo di carne di bue, mescolata col 5 ‰ di carne di cavallo, trattato con  $\frac{1}{10}$  di siero; ed è capace di dare un intorbidamento dopo un'ora e dei fiocchi dopo 2 ore, in un succo di carne di bue mescolata col 2 ‰ di carne di cavallo.

**Salsiccie di carne di maiale o altri preparati.** — Le salsiccie si sminuzzano finamente e si trattano con soluzione di soda 0,1 ‰ da coprirlle completamente. Dopo molte ore, si decanta il liquido, si rende debolmente alcalino, se sia acido, si filtra ed il filtrato si diluisce o coll'egual volume di soluzione di cloruro di sodio 1,6 ‰, o con un volume 5, 10, 15 volte di soluzione di cloruro di sodio 0,8 ‰. Il liquido, così diluito, si tratta con siero come è stato detto per la carne.

Colle salsiccie di cavallo e con siero di animale iniettato con carne di cavallo, si ha la reazione visibilissima in tutte le diluizioni; colle salsiccie di maiale e collo stesso siero non si ha reazione affatto. Perciò, nei preparati di carne di maiale si può scoprire la carne di cavallo con sicurezza, anche quando essa vi si trovi in piccola quantità.

L'affumicatura, il nitro, l'acido borico, l'acido salicilico ed il bisolito di sodio non disturbano affatto la reazione. Una leggera cottura della saliccia indebolisce la reazione; una cottura prolungata la annulla (Ruppin).

*Fecola o farine.* — La fecola o la farina si aggiunge per dare al preparato bell'aspetto e per aumentare peso e volume. Si ricerca, sciogliendo, il preparato nella soluzione alcoolica di potassa 8°, nel modo che si è detto dianzi per la ricerca della carne dei solipedi. L'amido, rimasto indisciolto, si raccoglie su di un filtro di carta, si lava due volte con potassa alcoolica, poi con alcool fino a che il filtrato si intorbida per aggiunta di acido: il residuo si saggia con tintura di iodio.

Nei preparati di carne, piccole quantità di amido possono provenire dalle droghe aggiunte come condimento: quindi non si considererà sofisticato il preparato che non ne contenga una quantità piuttosto elevata.

In ricerche scrupolose è bene di determinare quantitativamente l'amido col metodo di Mayrhofer (*Zeitschr. anal. Chemie*, Vol. 38, p. 375).

*Materie coloranti rosse.* — Le materie coloranti rosse si aggiungono ai preparati di carne per dar loro un bell'aspetto e per nascondere il difetto dell'inverdimento. Per scoprire coteste materie coloranti Juckenach e Sendtner hanno proposto il seguente procedimento: una parte del preparato di carne si fa seccare in stufa a 105° C., si estrae poi, in apparecchio di Soxhlet, con etere di petrolio per 3 ore circa, affine di togliere tutto il grasso e le sostanze catramose, eventualmente provenienti dall'affumicatura, ed il residuo si fa seccare nuovamente. Se la carne sia stata artificialmente colorata, apparirà rosa o rossa; in questo caso, si tratta con glicerina acquosa, riscaldando in bagnomaria bollente, e questa si approprierà la materia colorante e diverrà rosa o rossa.

Spaeth invece ha proposto il seguente procedimento: Si tagliuzzava finamente la carne, si fa seccare in stufa a 100° C., si estrae con etere di petrolio e la massa digrassata si riscalda in bagnomaria bollente con una soluzione 5° di salicilato di sodio, il quale, in breve tempo, discioglie la materia colorante, che poi potrà essere separata ed identificata nel modo che si dirà per il vino.

*Nitro.* — Il nitro si aggiunge ai preparati di carne per conservare il colorito rosso al muscolo. Si ricerca nel modo seguente:

Si tagliuzzava finamente il preparato, si mette in una capsula di porcellana e si copre con acqua distillata. Si fa bollire, si filtra e sul filtrato si fa la reazione dell'acido nitrico, come per l'acqua potabile. Non si ha reazione nei preparati, che non contengono nitro, si ha forte reazione in quelli che ne contengono anche piccola quantità.

*Acido borico.* — L'acido borico si aggiunge ai preparati di carne per impedire fermentazioni anormali od alterazioni. La ricerca e la determinazione dell'acido borico si fa seguendo il metodo di Jorgensen. 10 o 15 gr. di carne si mescolano con 5 cc. di soluzione di acetato di calcio 10°, in capsula di nichel, la mescolanza si fa seccare in stufa a 100° C. ed il residuo si incinera con fiamma diretta.

Le ceneri si riprendono con acqua, acidificata leggermente con acido solforico, si riscalda in bagnomaria per cacciare tutto l'acido carbonico, si filtra, si lava più volte capsula e filtro con acqua distillata, il filtrato si

diluisce a 50 c. c. con acqua distillata e si neutralizza con potassa  $N_{10}$ , servendo da indicatore la fenoltaleina. Al liquido, si aggiungono 25 eme. di glicerina neutra e si titola nuovamente con potassa  $N_{30}$ . In queste condizioni, l'acidità dell'acido borico sarà tutta messa in evidenza, e dai centimetri cubici di alcali  $N_{10}$ , impiegati in questa seconda titolazione, si calcola l'acido borico, moltiplicandoli per 0,0062. Nel caso che nel preparato di carne non ci sia acido borico, per produrre la neutralità del liquido o meglio l'arrossamento della fenoltaleina, sarà sufficiente una goccia di alcali titolato od al più due.

Cotesto metodo di determinazione dell'acido borico dà risultati abbastanza esatti: le differenze riscontrate, in più od in meno, tra le quantità trovate e calcolate oscillano tra 1 e 2 %.

*Bisolfito di sodio.* — Il bisolfito di sodio si aggiunge come antisettico e come sostanza capace di mantenere rossa la carne.

Si scopre ricercando l'acido solforoso. Si tagliuzza, cioè, finalmente il preparato di carne, si mette in una capsula di porcellana insieme ad una quantità di acqua distillata da coprirlo completamente e si riscalda fino all'ebollizione. Si filtra, il liquido filtrato si fa concentrare a piccolo volume, si introduce in un grosso tubo da saggio e si acidifica con qualche goccia di acido solforico diluito. La provetta si chiude con un turacciolo di sughero attraversato da un tubo affilato e si riscalda all'ebollizione, presentando la punta affilata ad una strisciolina di carta, inzuppata con una soluzione di gm. 0,10 di iodato di potassio in 3 eme. di acqua amidata, resa acida con qualche goccia di acido solforico. La carta diviene bleu, nel caso che dal liquido si separi acido solforoso anche in piccola quantità (Guerin).

Al X Congresso di igiene e di demografia, tenuto in Parigi nel 1901, tutti i convenuti hanno espresso il parere che gli antisettici negli alimenti siano proibiti. Rubner ha soggiunto che gli alimenti debbano esser venduti come la natura li dà; la conservazione cogli antisettici essendo molto pericolosa.

## Pesci.

*ALTERAZIONI.* — Il pesce fresco, o morto da poco tempo, ha carne soda, elastica, che non conserva l'impressione del dito; ha le squame lucenti, le branchie chiuse e di color rosso; gli occhi chiari e vivaci; la coda distesa e dura. Il pesce stantio invece ha carni molli e floscie; le squame non più lucenti perchè coperte di una secrezione viscida; gli occhi opachi ed infossati; le branchie brunastre e tramandano odore di putrefazione. In alterazione più avanzata il pesce si gonfia per sviluppo di gas sotto la pelle; le branchie ed il capo esalano un odore acuto e ripugnante; la pelle si sgonfia se si pungo con un ago. Cotesto pesce se si getta nell'acqua rimane a galla, mentre quello fresco va a fondo.

La carne del pesce fresco ha reazione anfotera, quella del pesce alterato reazione nettamente alcalina.

I pesci uccisi con dinamite hanno la vescica natatoria rotta; quelli uccisi con cloruro di calce hanno le squame giallognole, gli occhi rossi e talvolta hanno anche l'odore disgustoso del cloruro.

## Composizione.

TAB. 40

Qualità	Acqua %	Sostanza azotata %	Grasso %	Sostanze minerali %	Sostanze azotate nella sostanza secca %
<b>Pesci molto grassi.</b>					
Salmone. . . . .	64.29	21.60	12.72	4.39	60.49
Anguilla di fiume . . . . .	57.42	12.83	23.37	0.85	30.41
<b>Pesci poco grassi.</b>					
Luccio . . . . .	79.63	18.42	0.53	0.96	90.59
Storione. . . . .	78.59	18.08	0.90	1.43	84.45
Merluzzo . . . . .	82.20	16.23	0.33	1.36	91.08

## Uova.

ALTERAZIONI. — Anche le uova vanno soggette ad alterazioni, causate dall'accesso dei germi della putrefazione attraverso i pori del guscio. Per conoscere se un ovo sia alterato, senza romperlo, si ricorre ai caratteri seguenti:

In un locale poco illuminato, si dispone l'ovo tra la fiamma di una candela e l'occhio dell'osservatore (speratura) e se sarà fresco apparirà trasparente, facendo nettamente distinguere il torlo. La camera d'aria, in questo caso, sarà assai piccola e quasi invisibile.

Un ovo immerso nell'acqua piglierà, a seconda della età e conseguentemente a seconda della camera d'aria, più o meno grande, una posizione diversa ed il suo asse maggiore sarà più o meno inclinato sull'orizzonte. Le uova fresche giacciono perfettamente orizzontali sul fondo del recipiente; le uova di 3 a 5 giorni fanno un angolo coll'orizzonte di 20 gradi; le uova di 8 giorni di 45 gradi; le uova di 11 giorni di 60 gradi; le uova di tre settimane di 75 gradi.

Per conoscere l'età delle uova, serve anche bene la determinazione del peso specifico. Le uova fresche hanno un peso specifico che oscilla tra 1,0784 e 1,0942; in media 1,080, mentre le uova di circa tre settimane hanno un peso specifico medio di 1,050; le uova guaste di 1,015. Poichè le uova all'aria perdono giornalmente gr. 0,010 di acqua all'incirca e nei mesi di estate 0,018 gr.

La determinazione del peso specifico si fa molto comodamente con una soluzione 10 % di cloruro di sodio nella quale le uova fresche affondano, le uova stantive si sommergono e rimangono tanto più vicine alla superficie del liquido quanto maggiore è la loro età.

## Composizione.

TAB. 41.

Qualità	Peso medio di un uovo gr.	Peso medio del guscio gr.	Peso medio dell'albume gr.	Peso medio del tuorlo gr.	Acqua % <sub>100</sub>	Sostanze azotate % <sub>100</sub>	Grasso % <sub>100</sub>	Sostanze minerali % <sub>100</sub>	Sostanze azotate nella sost. secca % <sub>100</sub>
Cova di gallina . . . . .	53.0	6.0	31.0	16.0	73.67	12.55	12.11	1.12	17.87

## Latte.

Il latte di vacca è l'alimento più usato dall'uomo in tutti i periodi della sua vita. Esso è perciò di gran consumo e soggetto a molteplici sofisticazioni, le quali spesso ne diminuiscono il potere nutritivo, spesso lo rendono anche nocivo.

ORIGINE DEL LATTE. — Il latte proviene dalle glandule mammarie, le cui cellule, sotto l'azione della mungitura o del succhiamento del vitello, subiscono una metamorfosi, per la quale si disfanno rapidamente e danno i costituenti solidi del latte, mentre il sangue, trasudando l'acqua nella mammella, scioglie e sospende i prodotti di coteste metamorfosi. Quindi, il sangue non produce il latte, filtrando, come si credeva, attraverso le glandule, ma contribuisce alla formazione attivissima e rapidissima delle cellule che poi dovranno dare il latte. E che effettivamente sia così si può desumere:

1° dalla presenza di detriti delle cellule glandulari nel latte;

2° dalla mancanza di caseina e di lattosio nel sangue;

3° dalla prevalenza dei sali di potassio nelle ceneri del latte, prevalenza in accordo colle ceneri dei tessuti e non colle ceneri del sangue, ove prevalgono i sali di sodio;

4° dalla presenza nel latte di una nucleina, che è una sostanza speciale delle cellule e che non si trova nel sangue.

Perciò si può ritenere, con sicurezza, che il latte sia un prodotto esclusivo dell'attività cellulare delle glandule galattogene, attività che sta in relazione stretta col benessere dell'animale e quindi colla nutrizione e con tutte quelle condizioni esterne ed interne che contribuiscono a rendere l'animale vegeto e sano.

## Colostro.

Il colostro, propriamente detto, è una secrezione albuminoide che si manifesta, talvolta, anche due mesi avanti il parto, o come una sostanza bruna, picea simile al miele, oppure come un liquido di colore citrino. Quantunque queste forme non siano sempre chiarissime e compaiano, qualche volta, tutte e due nello stesso animale, pure la prima è più frequente nelle prime muntiture e la seconda nelle più tardive.

La secrezione densa precipita: pel riscaldamento, con acido acetico, con cloruro mercurico e con alcool; non si rapprende col presame; non contiene grasso; contiene poche sostanze minerali, discreta quantità di sostanze albuminoidi sciolte che passano attraverso il filtro di Chamberland e poche sostanze albuminoidi sospese.

La secrezione liquida differisce da quella densa per una maggiore quantità di acqua, per una minor quantità di sostanze albuminoidi e per una maggior quantità di sostanze minerali. Si avvicina ad essa per il comportamento verso le sostanze chimiche, il calore ed il presame.

La composizione di queste due secrezioni è rappresentata dalle cifre riportate nella tabella 42 (Houdet).

Quattro o cinque giorni prima del parto sparisce completamente questa secrezione ed è sostituita dal colostro, propriamente detto. Questo è un liquido di odore e sapore acuto, di color giallo o rossastro, per causa del sangue, di reazione talvolta acida, talvolta alcalina, talvolta anfotera. Centrifugato, lascia separare una sostanza, simile alla panna del latte, formata, in massima parte, di corpuscoli più grandi dei globuli grassi del latte e con una superficie scabra. Il colostro è leggermente purgativo, si rapprende col calore, coll'acido acetico, col cloruro mercurico e col presame; e quanto più si avvicina alla composizione del latte, tanto meno coagula col calore e tanto più diviene bianco. Esso contiene inoltre più amidocorpi del latte.

TAB. 42

Sostanze	Secrezione densa		Secrezione liquida	
	in soluzione	in sospensione	in soluzione	in sospensione
Acqua . . . . .	63.44	—	92.79	—
Grasso . . . . .	—	0	—	0.15
Lattosio . . . . .	—	—	—	—
Albuminoidi . . . . .	22.74	12.44	0.80	4.39
Fosfato di calcio . . . . .	—	—	1.38	0.03
Sostanze minerali . . . . .	traccie	—	0.24	0.14
Sostanze fisse . . . . .	34.82		7.43	

La tabella 43 dà la composizione del colostro di una vacca normanna 6 giorni, 4 giorni avanti il parto ed immediatamente dopo il parto.

TAB. 43.

Sostanze %	Secrezione avuta sei giorni prima del parto		Secrezione avuta quattro giorni prima del parto		Secrezione avuta immediatamente dopo il parto	
	sospese	sciolte	sospese	sciolte	sospese	sciolte
Acqua . . . . .	—	78.45	—	80.45	—	78.50
Grasso . . . . .	0.50	—	3.01	—	3.14	—
Lattosio. . . . .	—	2.35	—	3.14	—	2.70
Sostanze azotate . . . . .	17.43	0.47	12.08	0.45	14.53	0.25
Fosfato di calcio . . . . .	0.33	0.11	0.37	0.10	0.35	0.11
Sali . . . . .	0.28	0.08	0.25	0.15	0.28	0.14
Sostanze fisse . . . . .	21.53		19.55		21.50	

Dalle cifre su esposte si vede chiaramente il passaggio del colostro al latte, soprattutto per la diminuzione dell'albumina solubile e per l'aumento della quantità di grasso. Contuttociò l'equilibrio di cotesta secrezione non avviene che al quinto giorno dopo il parto, nel quale tanto la sostanza secca, quanto lo zucchero di latte hanno raggiunto le quantità normali, l'una diminuendo l'altro gradatamente aumentando.

### Proprietà fisiche e chimiche del latte.

Il latte è un liquido opaco, bianco tendente debolmente al giallo; ha sapore dolciastro, odore particolare, che rammenta quello che esala dalla pelle delle vacche sane, ed è vario a seconda del tempo trascorso dalla mungitura ed a seconda dell'alimentazione dell'animale.

DENSITÀ. — La densità del latte è superiore a quella dell'acqua: in media è 1,0315 alla temperatura di 15° C., ma oscilla tra 1,029 e 1,033. Quindi, un litro di latte a 15° C. peserà in media 1031,5 grammi. La massima densità del latte è tra 0° e 1°, e per ogni variazione di 5° C. nella temperatura, il peso specifico del latte varia di 0,001 entro i limiti di temperatura ordinaria.

ASPETTO AL MICROSCOPIO. — Il latte, osservato al microscopio, con lente a secco apparisce formato di un liquido opaco bianco nel quale nuotano

tanti corpuscoli rotondi, diversi tra loro soltanto per la grandezza. Questi corpuscoli, ai quali è stato dato il nome di corpuscoli del latte, hanno una dimensione che oscilla tra mm. 0,01 e mm. 0,0016, ed un peso medio di gr. 0,000,000,493 (Gutzeit). Un litro di latte quindi può contenere da 2784 a 5553, in media 4068 milioni di cotesti globuli (Schellenberg). La loro grandezza, del resto, è strettamente legata alla razza, allo stato dell'animale, all'epoca della lattazione ed all'alimentazione. I globuli più grandi, secondo Schellenberg, si hanno nella razza Jersey, secondo Paukowsky, nella razza Guernsey: i più piccoli nell'Angler e nell'Ostfriesen. Le malattie, la fatica, l'eccitazione e tutte le influenze esterne, che turbano il regolare andamento dell'organismo, fanno diminuire il numero dei globuli grandi. Il periodo avanzato della lattazione fa anche diminuire i globuli grandi ed aumentare i piccoli. Il foraggio verde fa aumentare i globuli piccoli: il foraggio secco non fa aumentare i grandi, ma ne fa aumentare il numero totale. Il maggior numero di globuli grandi si ha nell'alimentazione con trifoglio, il maggior numero di piccoli nell'alimentazione con granturco. La media si ha nell'alimentazione con vecchia e colle foglie di barbabietola.

SEPARAZIONE DELLA CREMA. — Il latte lasciato in riposo, per qualche tempo, si divide in due strati: uno superiore di un colorito bianco giallastro, uno inferiore di un colorito bianco tendente al bleu. A formare lo strato superiore, o *crema*, concorrono i globicini disseminati nel latte, i quali, avendo un peso specifico minore del liquido nel quale sono immersi, montano con maggiore o minore celerità a seconda della loro grandezza. Lo strato inferiore o *latte senza crema*, è formato di tutti i componenti del latte con un residuo di crema, formato dai globicini più piccoli che montano con difficoltà.

AZIONE DEL CALORE. — Il latte, portato alla temperatura d'ebollizione, si gonfia grandemente ed esce dal vaso: quando però si riscalda ad una temperatura più bassa e per lungo tempo, si ricopre di una pellicola giallastra, che è formata di grasso e di caseina rappresa per azione simultanea del calore e dell'ossigeno dell'aria. Questo fatto si deve riferire ad una ossidazione della caseina, perchè la pellicola non si forma quando il latte si riscalda in un ambiente di anidride carbonica.

Il latte, scaldato sopra 70° C., poi raffreddato a 35° e trattato con presame, coagula con notevole ritardo ed il coagulo non è adatto a dare l'ordinario formaggio. Ciò è dovuto indubbiamente o ad una alterazione profonda dei componenti del latte, o ad una diversa orientazione delle parti che si trovano combinate. Le ipotesi emesse per spiegare il fatto sono molte: chi ha creduto trattarsi di una trasformazione della lattalbumina in caseina, chi della parziale peptonizzazione degli albuminoidi del latte, chi della coagulazione della lattalbumina.

Eugling crede che durante il riscaldamento del latte una parte dell'acido fosforico dei fosfati alcalini passi dal siero alla calce della caseina, per cui si forma una certa quantità di albuminato alcalino ed il latte acquista reazione debolmente alcalina.



Söldner invece crede che col riscaldamento diminuiscono i sali di calcio solubili del latte, precipitandosi sotto forma di fosfati insolubili. La diminuzione quindi della coagulabilità del latte bollito è una conseguenza della diminuzione dei sali di calcio solubili, i quali, restituiti al latte coll'aggiunta di un acido, fanno al latte stesso tornare la sua coagulabilità.

« Quindi l'ebollizione altera notevolmente la costituzione del latte. I cambiamenti finora accertati sono: diminuzione dei sali di calcio disciolti, e quindi alterazione dei componenti inorganici del latte: trasformazione della lattalbumina in caseina; modificazione molecolare della caseina » (Besana).

**REAZIONE.** — Il latte, appena munto, ha reazione acida e contemporaneamente alcalina, o, come si dice, ha reazione anfotera. Sebelien ha trovato che, per saturare l'alcalinità della reazione, anfotera, servendosi della laccamuffa, come indicatore, sono necessari emc. 0,4 a 1,0 di acido solforico  $N_{10}$  per 10 emc. di latte; e per saturare l'acidità, sono necessari emc. 6 a 10 di alcali  $N_{10}$  per la stessa quantità di latte.

Il nutrimento, del resto, deve avere una grande influenza sulla reazione, perchè il latte dei carnivori ha reazione decisamente acida, quello degli erbivori decisamente alcalina.

La doppia reazione, secondo Soxhlet, è dovuta alla presenza simultanea nel latte di due fosfati alcalini, il bibasico, che ha reazione alcalina ed il monobasico che ha reazione acida e questi reagiscono sulle carte di tornasole per la reazione che è propria ad ognuno.

**VISCOSITÀ.** — La viscosità del latte è maggiore di quella dell'acqua: essa aumenta grandemente dai 10° C. verso lo zero, tanto che un latte freddo scorre difficilmente e sbattuto forma una schiuma alla superficie che rimane intatta per lungo tempo. Invece un latte riscaldato scorre facilmente e sbattuto, lascia presto dissolvere la schiuma che si forma alla superficie. La viscosità, come si può capire facilmente, ha una grande influenza sulla separazione della crema, poichè se un latte è molto viscoso i globuli incontrano un ostacolo grandissimo nel loro movimento ascensionale, il quale o non si compie affatto, oppure è di una lentezza straordinaria.

**COAGULAZIONE.** — Se si riscaldi il latte a 40° C. ed in esso si faccia arrivare un po' di presame, si vedrà, dopo un certo tempo, rapprendersi in una massa apparentemente compatta, ma effettivamente delicata e molle.

Il latte si rapprende pure per azione degli acidi minerali ed organici, per azione di certi succhi contenuti nei fiori, nelle foglie, nei tralci e nei frutti di alcune piante e per azione dell'alcool. Non coagula per ebollizione quando è fresco, invece coagula quando è stantio o quando in esso si sia formato dell'acido lattico, per azione di certi microrganismi che attaccano, soprattutto, lo zucchero di latte, nella quantità di 2 a 2,5 gr. per litro.

**INFLUENZA DELL'ALIMENTAZIONE SULLE PROPRIETÀ E SULLE QUALITÀ DEL LATTE.** — La qualità dell'alimento ha influenza grandissima sulle proprietà del latte. Se gli alimenti che si danno alle vacche siano sani e saporosi, il latte ha sapore ed odore gradevole, se gli alimenti siano invece scadenti o

contengano odori poco grati, il latte ha sapore ed odore sgradevole, e ciò perchè le sostanze odoranti dei foraggi passano prima nel torrente circolatorio poi nel latte. Così non sarà buona regola mettere nella razione giornaliera una quantità predominante di alimenti che contengano essenze odoranti, come foglie di cavolo, panelli di semi di crucifere o cascami delle distillerie (1) perchè in questo modo si avranno sempre latti con odori disgustosi. Non sarà nemmeno buona regola introdurre nella razione erbe o semi che contengano sostanze amare, sostanze coloranti (2) o sostanze nocive, perchè anche queste, come gli odori passano nel latte e gli comunicano sapore cattivo, colore e proprietà venefiche. Quindi, il latte migliore si ha quando le vacche si nutrono con erbe sane nella primavera e nell'estate e con fieno eccellente nell'inverno.

Il latte ottenuto con alimentazione verde ha reazione acida più spiccata di quello ottenuto con alimentazione secca.

La qualità del latte è in dipendenza della individualità ed anche della alimentazione, poichè vacche buone e nutrite con foraggi buoni, ricchi di sostanze azotate e di fosfati, danno anche un latte più ricco di sostanze azotate e più serbevole. Difatti, le vacche che pascolano nei prati irrigui, danno un latte facile ad acidire e meno nutriente di quello ottenuto da vacche che pascolano sui monti.

Inoltre le ricerche di Wolff, di Biedermann, di Striedter, di Haase, di Baeseke, di Soxhlet, e di altri, hanno dimostrato, in modo non dubbio, che un foraggio ricco di grasso fa aumentare il grasso anche nel latte, sebbene questo aumento non sia costante e sia dipendente molto dalla individualità. I risultati contraddittorii avuti da alcuni sperimentatori (Fleischer, Kühn e Stohmann) dipendevano unicamente dal modo di somministrazione, poichè, come ha dimostrato Soxhlet, il grasso deve essere dato all'animale sotto forma di emulsione e non mescolato al foraggio solido. Dunque, dalle esperienze di nutrizione, risultava, almeno apparentemente, che il grasso del foraggio passasse direttamente nel latte e questo fatto era confortato dalle osservazioni dello stesso Soxhlet, il quale determinando gli acidi volatili di grassi provenienti da latti di vacche alimentate con foraggio grasso, trovò che diminuivano grandemente. Difatti il numero di Reichert diminuì da 25,23 a 15,7, in un grasso separato da un latte di una vacca, avuto prima e dopo l'ingestione di 16 libbre di fieno e 2 libbre di olio di sesamo; il grasso di un latte proveniente da vacche alimentate con 60-65 litri di residui della distillazione dell'alcool dal mais, dette un numero di Reichert di 15,5. Ma, determinando il punto di fusione di cotesti grassi, Soxhlet trovò, contrariamente a quanto doveva avvenire per la ipotesi su accennata, che esso era

(1) Comunicano al latte sapore particolare od acre: l'*Allium ursinum*, l'*Arthemisia absinthium*, la *Brassica napus*, la *Brassica rapa*, l'*Euphorbia cypar*, la *Gratiola off.*, l'*Helleborus niger*, la *Matricaria camomilla*, la *Zea mais*.

(2) Comunicano al latte colore rosso pallido: il *Gallium verum*, la *Rubia tinctorum*: giallo pallido: il *Daucus carota*, il *Rheum palmatum*: bian: l'*Anemone tinet.*, il *Betonica umbellata*, il *Melaphyrum arvense*, il *Mercurialis perennis*, il *Polygonum aviculare*, il *Polygonum fagopyrum* ed il *Rhinanthus major*.

più elevato che nel burro naturale. Se fossero passati nel grasso naturale del latte, che fonde a 31°-31,5° C., l'olio di sesamo e l'olio di mais dell'alimento, che sono liquidi alle temperature ordinarie, il punto di fusione della mescolanza doveva abbassarsi, invece si era elevato a 41,5°. La qual cosa fece giustamente supporre a Soxhlet che il grasso dell'alimento non passasse direttamente, ma spingesse il grasso dei tessuti animali nel latte, il quale grasso ha un punto di fusione molto più elevato del grasso del burro.

La razione migliore per avere da una vacca latte buono ed abbondante è quella nella quale le sostanze azotate digeribili si trovano colle sostanze non azotate digeribili nel rapporto di 1:5,4, secondo Wolff, e di 1:6, secondo Leroy Anderson. La quantità di pannello deve sempre essere piccola 0,4 per 100 kg. di peso vivo, per non alterare la produzione lattea a favore dell'ingrassamento dell'animale.

### Composizione del latte.

Il latte non è un liquido unico, esso è formato di un numero considerevole di sostanze, delle quali alcune sono in sospensione altre in soluzione.

Il latte di tutti i mammiferi ha la stessa composizione grezza: differisce, nelle diverse specie, solo per la predominanza o per il difetto di alcuni dei componenti.

L'analisi qualitativa ci dice che il latte è composto di *acqua, grasso, caseina espansa, lattalbumina, lattoglobulina, proteina del siero, urea, ipozantina, sostanza amiloide, zucchero di latte, materie coloranti, materie odorose, acido citrico combinato colla calce, altri acidi organici, sali minerali, gas ed alcune diastasi in quantità piccolissima, pepsina, tripsina, galattasi, lipasi, ossidasi e la diastasi glicolitica.*

Vediamo ora le proprietà e l'importanza dei componenti del latte sopra nominati.

GRASSO. — Il grasso si trova sospeso nel latte in forma di globicini sferici di varia dimensione, i quali, quando il latte è in riposo, ascendono alla superficie e formano uno strato di crema più o meno spesso, a seconda della bontà del latte. Nella crema i globicini di grasso rimangono a contatto gli uni degli altri senza saldarsi e senza formare quella massa, pastosa ed omogenea, che è il burro. Anzi, se si voglia ottenere questo, o se si voglia estrarre il grasso coi solventi, è necessario sbattere violentemente e prolungatamente la crema, oppure aggiungerle avanti, acido acetico o qualche goccia di soluzione di potassa o di soda. Questi fatti fecero sospettare che i globuli fossero ricoperti di una membrana, la quale avrebbe impedito loro di riunirsi prima che fosse lacerata per uno sbattimento meccanico, oppure avrebbe impedito ai solventi di sciogliere il grasso, prima che essa fosse distrutta cogli acidi o cogli alcali caustici.

A questa ipotesi, che ebbe dei fautori convinti, come il Béchamp, se ne contrappose un'altra, sostenuta dal Duclaux, che escludeva la esistenza della membrana ed ammetteva che i globuli fossero ricoperti unicamente di un velo di liquido latteo, il quale funzionava da membrana. Appoggiava questa sua idea, prima di tutto, al fatto che il latte è un liquido viscoso e che i globuli di grasso, quando montano, esercitano una certa attrazione sulle sostanze che si trovano in soluzione nel latte, da rendere il plasma latteo, che avvolge i globuli, più denso e più viscoso del latte stesso. Onde l'ostacolo alla riunione dei globuli, la resistenza ai solventi e la necessità di allontanare, con una forza meccanica, il velo di liquido viscoso e di renderlo meno tenace con acido acetico e con alcali caustici. Per il Duclaux quindi il grasso nel latte obbedisce a tutte le leggi alle quali obbediscono le emulsioni ed esso si deve trovar sospeso nel liquido latteo come le goccioline di olio di mandorle o di olio di oliva si trovano sospese in una emulsione gommosa.

La ipotesi di Duclaux, ingegnosa nella concezione, prese il sopravvento sulla precedente. Ma anche essa sembra oggi piegare, dopo i lavori di Béchamp e di Storch, pubblicati in questi ultimi anni, e sembra cedere il posto nuovamente alla ipotesi primitiva.

Difatti Béchamp è arrivato ad isolare e seccare i globuli di grasso del latte ed a dimostrare che essi contengono, oltre al burro, una sostanza albuminoide solubile, che ha chiamato microzima, e che la pellicola di questi globuli non è formata di caseina, ma di una sostanza epidermica.

Storch (*Zeitschr. f. Nahr. und Genussmittel* 1898, p. 133), ha anche isolato i globuli di grasso dalla crema, per successivi e ripetuti lavaggi con soluzione di zucchero 33 % e con acqua: ed ha trovato che cotesti globuli contengono, oltre il grasso, una sostanza albuminoide che non si può allontanare con lavaggi nemmeno prolungatissimi. La panna lavata inoltre si presenta sotto il microscopio come la panna comune e non cede il suo grasso all'etere o alla benzina se non quando sia stata trattata con acido acetico. In fine, ha potuto colorare i globuli, trattando la panna lavata con soluzione acquosa di picrocarminio ed ha visto che essi sotto al microscopio, si presentano scolorati, ma avvolti in un involuero colorato in rosso. Lo Storch da questi fatti conclude che i globuli grassi sono avvolti da una sostanza albuminoide idratata che funziona come una membrana colloide, e che in 100 parti di crema vi ha 72,5 di grasso e 27,5 di membrana.

**CASEINA.** — La caseina è la sostanza azotata più importante che si trova nel latte, sia per la quantità, sia per il potere nutritivo, sia per le sue trasformazioni nel caseificio. Essa ha la composizione elementare simile agli altri albuminoidi e simile perciò alla carne, al glutine ed al bianco d'uovo.

La caseina non è solubile nell'acqua e negli acidi diluiti, ma può simulare una soluzione quando si tratti con acqua di calce o con alcali in genere. Se difatti la caseina precipitata si stemperi nell'acqua di calce e si saturi poi l'alcalinità della mescolanza con acido fosforico, fino a reazione anfotera, si otterrà un liquido nel quale la caseina si comporta, come la caseina del

latte, verso il presame e gli altri coagulanti. E se questa soluzione si scaldi leggermente, acquista anche il colore e l'opacità caratteristica del latte.

La caseina si trova nel latte allo stato di espansione o di sospensione e ciò è stato dimostrato filtrando il latte, attraverso candele di porcellana ed anche attraverso la carta. Sul filtro rimaneva la caseina e le altre sostanze sospese, come una massa gelatinosa e attraverso il filtro passavano tutte le sostanze in soluzione. Ciò suggerì al Selmi l'ipotesi che la caseina si trovasse nel latte in forma di lamelle sottilissime, vibratili, le quali a contatto del presame e degli acidi avrebbero perduto questa vibratilità, si sarebbero corrugate, dando così il latte rappreso.

La caseina, precipitata con coagulanti non acidi, lavata ripetutamente con acqua distillata e digrassata, contiene una quantità di fosfato tricalcico che oscilla tra 8,25 ed 8,75 %.

La qual cosa fece supporre ad Eugling, che il coagulo risultasse dalla combinazione della caseina con una molecola di fosfato tricalcico. Invece gli studi successivi di Söldner dimostrarono che il fosfato tricalcico era semplicemente trascinato dal coagulo e che la quantità di calce non ista in rapporto coll'acido fosforico da formare il fosfato tricalcico soltanto, ma ve ne ha sempre un eccesso. La caseina del latte perciò deve essere considerata come una combinazione di caseina ed ossido di calcio, ovvero come un sale di calcio nel quale la caseina funziona da acido. Secondo Söldner, due possono essere le combinazioni della caseina colla calce, una neutra con 1,55 %, ed una basica con 2,36 % di ossido di calcio. Studi più recenti non solo danno ragione a Söldner, ma appoggiano la supposizione di Eugling in modo da farla apparire probabilissima.

« In conclusione, dice il Besana (1), lo stato della caseina nel latte assomiglia a quello della fibrina nel siero di sangue. L'organismo animale ha la facoltà di costruire albuminoidi in combinazione con sostanze minerali ed in uno stato fisico che non è di soluzione e neppure di precipitazione: ma che si può chiamare di espansione o gonfiamento. In questo stato l'albuminoide è molto sensibile agli agenti esterni, cioè subisce facilmente dei gradi di passaggio, sia verso lo stato di maggior liquidità, sia verso quello di maggior contrazione, cioè di coagulazione ».

Si deve aggiungere, infine, che la caseina contenuta nel latte di vacca non è affatto identica a quella contenuta nel latte di altri mammiferi. Ciò è stato dimostrato colla reazione biologica, per la quale il siero di sangue di animali, iniettati con latte di vacca, p. es., coagula esclusivamente la caseina del latte di vacca. Ma la diversità della caseina nei vari lattii è stata dimostrata ancora colla caseasi, una diastasi solvente, che si trova nel pancreas degli animali lattanti, la quale scioglie, con grandissima rapidità, in mezzo leggermente alcalino, ed alla temperatura di 37° C., la caseina del latte della specie dell'animale da cui è stata estratta, e scioglie con grandissima lentezza, la caseina degli animali di altra specie.

(1) *Compendio teorico pratico di caseificio*, 1890, p. 8.

**LATTALBUMINA.** — La lattalbumina è l'altra sostanza albuminoide che, per quantità e per importanza, viene immediatamente dopo la caseina. Essa rimane in soluzione nel siero, dopo avere allontanato la caseina, precipitandola col presame e si può ottenere riscaldando il siero a 70° o 75° C.

Questa, che si considera come la temperatura normale di coagulazione, può variare se al latte si aggiungano acidi o sali minerali. Così il sal marino eleva la temperatura di coagulazione, la potassa o la soda la ritardano, oppure la impediscono affatto, piccole quantità di acido acetico, di acido fosforico, di cloruro, di solfato e di fosfato di sodio la favoriscono.

Un siero di latte, neutralizzato con carbonato alcalino, può sopportare la temperatura di 100° C. senza coagulare; onde è necessario che il siero abbia una leggera acidità, per precipitare alla temperatura normale.

La lattalbumina, per alcune proprietà, si avvicina all'albumina del siero di sangue ed all'albumina dell'uovo, per altre se ne discosta ed è per questo che è stata chiamata *lattalbumina* per ricordarne la origine e per farne un'individualità a parte.

La lattalbumina è contenuta nel latte nella quantità media di 0,6 % e da essa trae origine la fabbricazione della ricotta, che è uno dei derivati del latte ovino, più appetiti dal nostro popolo e venduto a miglior mercato.

**PROTEINA DEL SIERO.** — Dopo aver separato dal siero la caseina e la lattalbumina resta un cascame albuminoide, il quale, da diversi sperimentatori, fu trovato costituito di una mescolanza di sostanze albuminoidi, ad ognuna delle quali si volle dare un nome diverso. Così, oltre alla *caseina* ed alla *lattalbumina*, esisterebbero nel latte la *lattoglobulina*, la *galattozimasia*, la *fibrina*, l'*albuminosa* e la *lattoproteina*. Senza entrare nella questione se coteste sostanze rappresentino individualità chimiche spiccate, oppure, come crede il Duceaux, se siano i vari gradi di idratazione della caseina stessa, ci sembra più opportuno chiamare, con Hammarsten, cotesto cascame albuminoide *proteina del siero*, perchè oltre a non compromettere la questione chimica, si toglie di mezzo una confusione non piccola. Il fatto notevole è questo che nel siero di latte la *proteina* può oscillare fra 0,11 e 0,34 %, ed essa, piuttosto che perdersi, come si fa ora, potrebbe essere utilizzata per aumentare il potere nutritivo del pane di granturco, del pane di segala, ecc., usando per l'impastamento il siero invece dell'acqua.

**SOSTANZE AZOTATE CRISTALLOIDI.** — Il latte contiene una piccola quantità di sostanze azotate cristalloidi, delle quali l'azoto può arrivare da 0,04 a 0,05 %. Coteste sostanze sono: l'*urea*, la *creatina* e l'*ipocantina*. È stata inoltre trovata nel latte un'altra sostanza azotata e fosforata, la *lecitina*, nella quantità media di 0,05 % (Burow).

**ZUCCHERO DI LATTE.** — Lo zucchero di latte è una sostanza idrocarbonata che si trova in quantità abbastanza grande nel latte e che ha un certo pregio commerciale. Allo stato puro, è cristallizzato, senza colore, poco solubile nell'acqua (1 parte in 6) insolubile nell'alcool: ha un sapore dolce molto debole; ha potere rotatorio e presenta il fenomeno della birotazione.

Lo zucchero di latte è un saccarosio; contuttociò riduce il liquido di Fehling, come fanno i glucosi.

Nel latte va soggetto a varie fermentazioni, principalissima la lattica, nella quale si produce acido lattico che fa coagulare spontaneamente la caseina.

**AMILOIDE.** — L'amiloide è una sostanza albuminoide che si trova in molti organi ed è considerata come una sostanza caratteristica d'una degenerazione particolare. Questa sostanza si trova negli organi sotto forma di granulazioni fine, trasparenti e organizzate in strati concentrici: collo iodio si colora in rosso, collo iodio e l'acido solforico in bleu; col bleu di metilene in rosso.

L'amiloide fu trovato da Herz (*Chemische Zeitung*, 1892), nella panna, nella parte non grassa del burro, nei formaggi molli e duri ed anche in una caseina pura.

**ACIDO CITRICO.** — L'acido citrico fu trovato la prima volta nel latte da Henkel nella quantità di 0,1 °/o. Söldner fa ascenderne la quantità a 0,25, arguendolo dalla quantità delle basi che si trovano nel latte.

L'acido citrico pare che nel latte abbia una importanza non piccola, perchè concorre non solo a mantenere in sospensione la caseina ed il fosfato di calcio (Vaudin), ma a rendere il coagulo, che si forma nello stomaco, meno duro e più facilmente attaccabile dal succo gastrico. Il latte quindi che contiene citrati, in giusta proporzione, sarà più facilmente digeribile di un altro che ne contenga in minor quantità.

**SOSTANZE MINERALI.** — Le sostanze minerali nel latte hanno una importanza grandissima nella nutrizione ed anche nei processi digestivi.

Söldner ha cercato di conoscere in qual modo acidi e basi si trovino combinati nel latte ed ha trovato che in un litro vi sono:

Cloruro di sodio . . . . .	gr. 0,962
Cloruro di potassio . . . . .	» 0,830
Fosfato monopotassico. . . . .	» 1,156
Fosfato bipotassico . . . . .	» 0,835
Citrato potassico . . . . .	» 0,495
Fosfato binagnesico . . . . .	» 0,336
Citrato di magnesio . . . . .	» 0,367
Fosfato bicalcico . . . . .	» 0,671
Fosfato tricalcico . . . . .	» 0,806
Citrato di calcio . . . . .	» 2,133
Ossido di calcio della caseina . . .	» 0,465

Alcuni dei sali, come si vede, sono solubili, altri insolubili nell'acqua; per la qual cosa Musso, Duclaux e Söldner dimostrarono che il fosfato tricalcico si trova sospeso nel latte in uno stato di divisione estrema, così da non poter vincere facilmente e sollecitamente la resistenza che offre la viscosità del latte alla sua deposizione. Secondo analisi accurate, fatte da Duclaux sulle ceneri di un latte (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1893, p. 2), le sostanze minerali solubili ed insolubili sarebbero distribuite nel modo seguente:

	Nel latte intero	Nel latte filtrato	Sostanze sospese
Allumina e ferro . . . . .	0,005	0,002	0,003
Magnesia. . . . .	0,017	0,011	0,006
Calce . . . . .	0,178	0,031	0,127
Acido fosforico. . . . .	0,213	0,088	0,125
Altri elementi non dosati	0,339	0,302	0,037
	<u>0,752</u>	<u>0,454</u>	<u>0,298</u>

Considerando ora che 0,127 di calce dei sali in sospensione, si combinano solamente con 0,108 di acido fosforico, si vede che resta ancora dell'acido fosforico, il quale sarà combinato colla magnesia, coll'allumina e col ferro. Per cui i sali in sospensione sarebbero:

Fosfato di ferro e di allumina . . . . .	0,006
Fosfato di magnesio . . . . .	0,013
Fosfato di calcio. . . . .	<u>0,235</u>
Totale . . . . .	0,254

Da ciò che è stato detto per la caseina e da ciò che risulta dalla razionale distribuzione dei sali nel latte, si può arguire che la opacità del latte sia data in massima parte dalla caseina espansa e dai fosfati in sospensione: i globuli di grasso contribuiscono solo per una parte a questa opacità. Difatti la pseudo soluzione di caseina, preparata col metodo di Hammarsten, è opaca come il latte, eppure non contiene grasso, il latticello, o latte di burro che contiene 0,5 % di grasso è opaco quanto un latte scremato che ne contenga da 1,3 a 2 %.

GAS. — I gas esistenti nel latte di vacca furono esaminati da Setschenow, mungendo il latte sotto l'olio di oliva. Trovò che in 100 volumi di latte ci sono:

	I	II	III
Acido carbonico libero . . . . .	5,65	6,72	5,01
Ossigeno. . . . .	1,64	0,16	0,32
Azoto. . . . .		1,41	1,34

### Analisi quantitativa.

Per poter decidere della bontà e delle sofisticazioni di un latte, è necessario di determinare la quantità dei più importanti costituenti di esso, poichè, tanto nell'uno che nell'altro caso, è la quantità di cotesti costituenti che varia.

Così un latte proveniente da una vacca mal nutrita o malata conterrà meno grasso delle quantità solite o normali e contemporaneamente conterrà più acqua; un latte ammacquato conterrà meno sostanze fisse e, per conseguenza, avrà una densità minore di un latte non ammacquato; un latte scremato conterrà una quan-



tità piccola di grasso, ed avrà una densità più elevata. Dunque, è solo colle determinazioni quantitative che noi potremo scoprire le sofisticazioni, le alterazioni e le anomalie del latte.

**PRESA DEL CAMPIONE.** — Siccome il latte, col riposo, si divide in strati più o meno ricchi di grasso, per l'affioramento della crema, prima di prelevare il campione, si deve agitare prolungatamente per renderlo uniforme.

Per prendere il campione da un recipiente di 3 o 4 ettolitri, si rimescola prima il latte ben bene con un adatto palo di legno, poi vi si immerge un bicchiere rovesciato fino ad un'altezza che corrisponda approssimativamente alla metà del liquido, si rad-drizza, si estrae e si versa il latte nel recipiente di cristallo bianco, pulito, che deve contenerlo.

Se si voglia prelevare un campione che rappresenti il valore medio del latte di una vaccheria, è necessario di riunire e mescolare tutto il latte di una mungitura e dalla massa prelevare il campione. Sarebbe un errore dare come media di una vaccheria la quantità dei componenti trovati nel latte di una sola vacca.

Inoltre, quando da una bottiglia si debba prelevare il latte per le diverse determinazioni e quando da un prelevamento all'altro corra qualche ora di tempo, si deve agitare ogni volta il latte per ridargli la uniformità perduta, e per fare in modo che le varie prese siano confrontabili fra loro.

**DENSITÀ.** — La densità del latte si può determinare colla bilancia di Westphal o con uno speciale areometro, detto lattodensimetro.

**BILANCIA DI WESTPHAL.** — La bilancia di Westphal (fig. 248) consiste di un sostegno a piede, vuoto, portante in basso una vite per livellare, che cammina in senso verticale, ed in alto una vite di pressione, che agisce in senso orizzontale. Entro il sostegno scorre un'asta metallica, che può esser fissata a varie altezze colla vite di pressione, e che sostiene il giogo della bilancia. Il braccio destro del giogo è diviso in 10 parti, 9 delle quali sono tracciate sulla sua grossezza, una, la decima, è rappresentata da un uncinetto che pende all'estremità. Il braccio sinistro porta una punta che, quando la bilancia è in perfetto equilibrio, ovvero allo zero, corrisponde ad un'altra fissa, situata nel sostegno. All'uncinetto del giogo è appeso un galleggiante, per mezzo di un sottile filo di platino, che ha una lunghezza di mm. 40 ed un diametro di mm. 5 e porta nell'interno un piccolo termometro nel quale è marcata in rosso la temperatura normale di 15° C.

Completa la bilancia un cilindro di cristallo di 50 cmc. circa che deve contenere il liquido del quale si vuol conoscere la densità; ed un numero di piccoli pesi che possono essere situati nel braccio graduato del giogo.

Questi sono in numero di 6 ed hanno la forma di cavaliere: i primi 3,  $a^1$ ,  $a^2$ ,  $a^3$ , hanno un peso eguale al galleggiante quando è immerso nell'acqua a  $15^\circ$  C.; gli altri  $b$ ,  $c$  e  $d$  hanno un peso dieci volte più piccolo l'uno dell'altro. Così  $b$  è 10 volte più piccolo di  $a^3$ , e dieci volte più piccolo di  $b$  e  $d$  dieci volte più piccolo di  $c$ . Il peso  $a^1$  porta un occhietto, per il quale può essere appeso all'uncinetto del giogo e serve per i liquidi che hanno una densità superiore a quella dell'acqua.

Costesti pesi hanno soltanto un valore di posizione; acquistano un valore numerico quando occupino un posto sul braccio del giogo graduato. Così  $a^1$ .

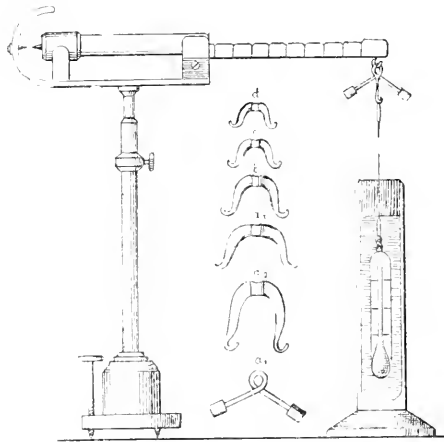


fig. 248.

appeso all'uncinetto, rappresenta l'unità;  $a^2$ ,  $a^3$  la prima decimale;  $b$ , la seconda;  $c$  la terza e  $d$  la quarta: ognuna poi acquista il valore numerico, corrispondente alla cifra scritta nel posto ove si trova.

Per determinare la densità del latte, si mette prima la bilancia in posizione orizzontale, facendo coincidere le due punte, per mezzo della vite situata sul piede, poi si versa il latte nel cilindro di cristallo fino quasi a riempirlo. Il cilindro si immerge in un bagno d'acqua a  $15^\circ$  ed ivi si tiene fino a che il latte abbia acquistata la temperatura precisa del bagno. Poi, il cilindro, sempre nel bagno, si porta sotto la bilancia e nel latte si immerge completamente il galleggiante, rimanendo sempre appeso all'uncinetto. Per la immersione, il galleggiante perderà di peso ed il giogo traboccherà dalla parte opposta: si ristabilirà l'equilibrio mettendo i vari pesi sul braccio graduato e la densità si avrà leggendo il numero segnato nella posizione che occupa ogni peso. Così, p. es., se l'equilibrio siasi ristabilito, mettendo il peso  $a^1$  sull'uncinetto, il peso  $b$  sul 2, il peso  $c$  sul 9 ed il peso  $d$  sul 5, si dirà che il latte ha la densità di 1,0295.

Qualora non si abbia la possibilità di portare il latte alla temperatura normale di  $15^\circ$ , si determina la densità e contemporaneamente la tempera-

tura, e si corregge la densità letta ricorrendo alle tabelle 44 e 45, oppure, moltiplicando il numero dei gradi che forma la differenza tra  $15^{\circ}$  e la temperatura del latte per 0,0002 e detraendo il prodotto dalla densità letta, se la temperatura del latte sia inferiore a  $15^{\circ}$  e sommandolo, se la temperatura sia superiore. In ogni modo è necessario, per la esattezza, che la temperatura del latte non sia molto distante da  $15^{\circ}$  C.

Per gli usi ordinarii, meglio che la bilancia, serve il lattodensimetro di Quevenne (fig. 249), il quale ha la forma di un ordinario areometro ed è numerato in modo da indicare le ultime due cifre corrispondenti alla densità, poichè le prime due rimangono costanti per ogni latte. Così sommando il valore 1000 alle cifre segnate nello strumento, si avrà il numero esprime la densità.

Un buon lattodensimetro deve esser lungo circa 20 cm. e portare per gradi estremi 14 e 38; ogni divisione deve poi distare dall'altra almeno due millimetri per poter leggere con sicurezza il mezzo grado.

Lateralmente alla scala, che indica le densità, si trovano alcune grafie che comprendono i gradi entro i quali il latte può esser puro oppure addizionato con  $\frac{1}{10}$ ,  $\frac{2}{10}$ , ecc., di acqua.

Meglio del lattodensimetro di Quevenne serve quello costruito da Greiner di Monaco, con il quale si usa poco latte e si legge, senza errore, il quarto di grado.

Per determinare la densità del latte col lattodensimetro, si opera nel modo seguente: si versa il latte, reso omogeneo con una piccola agitazione, in un cilindro di cristallo, abbastanza alto ed ampio, fino quasi a riempirlo. Poi, svanita la schiuma superficiale, vi si cala dolcemente il lattodensimetro e si lascia quando è in equilibrio.

Si legge il grado che sfiora la superficie libera del latte e quello esprimerà la densità del latte, affetta dall'errore prodotto dalla temperatura quando essa sia inferiore o superiore a  $15^{\circ}$  C. Le opportune correzioni si fanno nel modo indicato dianzi.

Il latte intero deve avere una densità che oscilli tra 1,029 e 1,033; il latte scremato, tra 1,033 e 1,037. Quando si abbiano latti che devino da questa regola e si presuma che non siano sofisticati, ma anormali, si ricorre, per la certezza, alla prova di stalla, la quale consiste nel prelevare il latte nuovamente da quella vaccheria da cui proviene il latte sospetto, con tutte le cautele possibili, e nel determinarne la densità. Se le due densità si corrispondono, vuol dire che non è sofisticato, ma anormale.

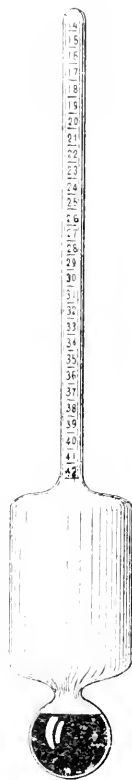


fig. 249.

## TAVOLA DI CORREZIONE

Gradi di temperatura del

TAB. 44.

Gradi del latte densimet.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
14	12.9	12.9	12.9	13.0	13.0	13.1	13.1	13.1	13.2	13.3	13.4	13.5	13.6	13.7	13.8
15	13.9	13.9	13.9	14.0	14.0	14.1	14.1	14.1	14.2	14.3	14.4	14.5	14.6	14.7	14.8
16	14.9	14.9	14.9	15.0	15.0	15.1	15.1	15.1	15.2	15.3	15.4	15.5	15.6	15.7	15.8
17	15.9	15.9	15.9	16.0	16.0	16.1	16.1	16.1	16.2	16.3	16.4	16.5	16.6	16.7	16.8
18	16.9	16.9	16.9	17.0	17.0	17.1	17.1	17.1	17.2	17.3	17.4	17.5	17.6	17.7	17.8
19	17.8	17.8	17.8	17.9	17.9	18.0	18.1	18.1	18.2	18.3	18.4	18.5	18.6	18.7	18.8
20	18.7	18.7	18.7	18.8	18.8	18.9	19.0	19.0	19.1	19.2	19.3	19.4	19.5	19.6	19.8
21	19.6	19.6	19.7	19.7	19.7	19.8	19.9	20.0	20.1	20.2	20.3	20.4	20.5	20.6	20.8
22	20.6	20.6	20.7	20.7	20.7	20.8	20.9	21.0	21.1	21.2	21.3	21.4	21.5	21.6	21.8
23	21.5	21.5	21.6	21.7	21.7	21.8	21.9	22.0	22.1	22.2	22.3	22.4	22.5	22.6	22.8
24	22.4	22.4	22.5	22.6	22.7	22.8	22.9	23.0	23.1	23.2	23.3	23.4	23.5	23.6	23.8
25	23.3	23.3	23.4	23.5	23.6	23.7	23.8	23.9	24.0	24.1	24.2	24.3	24.5	24.6	24.8
26	24.3	24.3	24.4	24.5	24.6	24.7	24.8	24.9	25.0	25.1	25.2	25.3	25.5	25.6	25.8
27	25.2	25.3	25.4	25.5	25.6	25.7	25.8	25.9	26.0	26.1	26.2	26.3	26.5	26.6	26.8
28	26.1	26.2	26.3	26.4	26.5	26.6	26.7	26.8	26.9	27.0	27.1	27.2	27.4	27.6	27.8
29	27.0	27.1	27.2	27.3	27.4	27.5	27.6	27.7	27.8	27.9	28.1	28.2	28.4	28.6	28.8
30	27.9	28.0	28.1	28.2	28.3	28.4	28.5	28.6	28.7	28.8	29.0	29.2	29.4	29.6	29.8
31	28.8	28.9	29.0	29.1	29.2	29.3	29.5	29.6	29.7	29.8	30.0	30.2	30.4	30.6	30.8
32	29.7	29.8	29.9	30.0	30.1	30.3	30.4	30.5	30.6	30.8	31.0	31.2	31.4	31.6	31.8
33	30.6	30.7	30.8	30.9	30.9	31.2	31.3	31.4	31.6	31.8	32.0	32.2	32.4	32.6	32.8
34	31.5	31.6	31.7	31.8	31.9	32.1	32.2	32.3	32.5	32.7	32.9	33.1	33.3	33.5	33.8
35	32.4	32.5	32.6	32.7	32.8	33.0	33.1	33.2	33.4	33.6	33.8	34.0	34.2	34.4	34.7

## PER IL LATTE INTERO

ermometro centigrado.

15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
14.0	14.1	14.2	14.4	14.6	14.8	15.0	15.2	15.4	15.6	15.8	16.0	16.2	16.4	16.6	16.8
15.0	15.1	15.2	15.4	15.6	15.8	16.0	16.2	16.4	16.6	16.8	17.0	17.2	17.4	17.6	17.8
16.0	16.1	16.3	16.5	16.7	16.9	17.1	17.3	17.5	17.7	17.9	18.1	18.3	18.5	18.7	18.9
17.0	17.1	17.3	17.5	17.7	17.9	18.1	18.3	18.5	18.7	18.9	19.1	19.3	19.5	19.7	19.9
18.0	18.1	18.3	18.5	18.7	18.9	19.1	19.3	19.5	19.7	19.9	20.1	20.3	20.5	20.7	21.0
19.0	19.1	19.3	19.5	19.7	19.9	20.1	20.3	20.5	20.7	20.9	21.1	21.3	21.5	21.7	22.0
20.0	20.1	20.3	20.5	20.7	20.9	21.1	21.3	21.5	21.7	21.9	22.1	22.3	22.5	22.7	23.0
21.0	21.2	21.4	21.6	21.8	22.0	22.2	22.4	22.6	22.8	23.0	23.2	23.4	23.6	23.8	24.1
22.0	22.2	22.4	22.6	22.8	23.0	23.2	23.4	23.6	23.8	24.1	24.3	24.5	24.7	24.9	25.2
23.0	23.2	23.4	23.6	23.8	24.0	24.2	24.4	24.6	24.8	25.1	25.3	25.5	25.7	26.0	26.3
24.0	24.2	24.4	24.6	24.8	25.0	25.2	25.4	25.6	25.8	26.1	26.3	26.5	26.7	27.0	27.3
25.0	25.2	25.4	25.6	25.8	26.0	26.2	26.4	26.6	26.8	27.1	27.3	27.5	27.7	28.0	28.3
26.0	26.2	26.4	26.6	26.9	27.1	27.3	27.5	27.7	27.9	28.2	28.4	28.6	28.9	29.2	29.5
27.0	27.2	27.4	27.6	27.9	28.2	28.4	28.6	28.8	29.0	29.3	29.5	29.7	30.0	30.3	30.6
28.0	28.2	28.4	28.6	28.9	29.2	29.4	29.6	29.9	30.1	30.4	30.6	30.8	31.1	31.4	31.7
29.0	29.2	29.4	29.6	29.9	30.2	30.4	30.6	30.9	31.2	31.5	31.7	31.9	32.2	32.5	32.8
30.0	30.2	30.4	30.6	30.9	31.2	31.4	31.6	31.9	32.2	32.5	31.7	33.0	33.3	33.6	33.9
31.0	31.2	31.4	31.7	32.0	32.3	32.5	32.7	33.0	33.3	33.6	33.8	34.1	34.4	34.7	35.1
32.0	32.2	32.4	32.7	33.0	33.3	33.6	33.8	34.1	34.4	34.7	34.9	35.2	35.5	35.8	36.2
33.0	33.2	33.4	33.7	34.0	34.3	34.6	34.9	35.2	35.5	35.8	36.0	36.3	36.6	36.9	37.3
34.0	34.2	34.4	34.7	35.0	35.3	35.6	35.9	36.2	36.5	36.8	37.1	37.3	37.7	38.0	38.4
35.0	35.2	35.4	35.7	36.0	36.3	36.6	36.9	37.2	37.5	37.8	38.1	38.4	38.7	39.1	39.5

## TAVOLA DI CORREZIONI

TAB. 45.

Gradi di temperatura de

Gradi del fatto- densimet	Gradi di temperatura de															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
18	17.2	17.2	17.2	17.2	17.2	17.3	17.3	17.3	17.3	17.4	17.5	17.6	17.7	17.8	17.9	
19	18.2	18.2	18.2	18.2	18.2	18.3	18.3	18.3	18.3	18.4	18.5	18.6	18.7	18.8	18.9	
20	19.2	19.2	19.2	19.2	19.2	19.3	19.3	19.3	19.3	19.4	19.5	19.6	19.7	19.8	19.9	
21	20.2	20.2	20.2	20.2	20.2	20.3	20.3	20.3	20.3	20.4	20.5	20.6	20.7	20.8	20.9	
22	21.1	21.1	21.1	21.1	21.2	21.3	21.3	21.3	21.3	21.4	21.5	21.6	21.7	21.8	21.9	
23	22.0	22.0	22.0	22.0	22.1	22.2	22.3	22.3	22.3	22.4	22.5	22.6	22.7	22.8	22.9	
24	22.9	22.9	22.9	22.9	23.0	23.1	23.2	23.2	23.2	23.3	23.4	23.5	23.6	23.7	23.9	
25	23.8	23.8	23.8	23.8	23.9	24.0	24.1	24.1	24.1	24.2	24.3	24.4	24.5	24.6	24.8	
26	24.8	24.8	24.8	24.8	24.9	25.0	25.1	25.1	25.1	25.2	25.3	25.4	25.5	25.6	25.8	
27	25.8	25.8	25.8	25.8	25.9	26.0	26.1	26.1	26.1	26.2	26.3	26.4	26.5	26.6	26.8	
28	26.8	26.8	26.8	26.8	26.9	27.0	27.1	27.1	27.1	27.2	27.3	27.4	27.5	27.6	27.8	
29	27.8	27.8	27.8	27.8	27.9	28.0	28.1	28.1	28.1	28.2	28.3	28.4	28.5	28.6	28.8	
30	28.7	28.7	28.7	28.7	28.8	28.9	29.0	29.0	29.0	29.1	29.2	29.3	29.4	29.5	29.8	
31	29.7	29.7	29.7	29.7	29.8	29.9	30.0	30.0	30.1	30.2	30.3	30.4	30.5	30.6	30.8	
32	30.7	30.7	30.7	30.7	30.8	30.9	31.0	31.0	31.1	31.2	31.3	31.4	31.5	31.6	31.8	
33	31.7	31.7	31.7	31.7	31.8	31.9	32.0	32.0	32.1	32.2	32.3	32.4	32.5	32.6	32.8	
34	32.6	32.6	32.6	32.7	32.8	32.9	32.9	33.0	33.1	33.2	33.3	33.4	33.5	33.6	33.8	
35	33.5	33.5	33.5	33.6	33.7	33.8	33.8	33.9	34.0	34.1	34.2	34.3	34.4	34.6	34.8	
36	34.4	34.4	34.5	34.6	34.7	34.8	34.8	34.9	35.0	35.1	35.2	35.3	35.4	35.6	35.8	
37	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.6	36.8	
38	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.6	37.8	
39	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.2	38.3	38.4	38.6	38.8	
40	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.1	39.2	39.4	39.6	39.8	

## PER IL LATTE SCREMATO

Termometro centigrado.

15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
18.0	18.1	18.2	18.4	18.6	18.8	18.9	19.1	19.3	19.5	19.7	19.9	20.1	20.3	20.5	20.7
19.0	19.1	19.2	19.4	19.6	19.8	19.9	20.1	20.3	20.5	20.7	20.9	21.1	21.3	21.5	21.7
20.0	20.1	20.2	20.4	20.6	20.8	20.9	21.1	21.3	21.5	21.7	21.9	22.1	22.3	22.5	22.7
21.0	21.1	21.2	21.4	21.6	21.8	21.9	22.1	22.3	22.5	22.7	22.9	23.1	23.3	23.5	23.7
22.0	22.1	22.2	22.4	22.6	22.8	22.9	23.1	23.3	23.5	23.7	23.9	24.1	24.3	24.5	24.7
23.0	23.1	23.2	23.4	23.6	23.8	23.9	24.1	24.3	24.5	24.7	24.9	25.1	25.3	25.5	25.7
24.0	24.1	24.2	24.4	24.6	24.8	24.9	25.1	25.3	25.5	25.7	25.9	26.1	26.3	26.5	26.7
25.0	25.1	25.2	25.4	25.6	25.8	25.9	26.1	26.3	26.5	26.7	26.9	27.1	27.3	27.5	27.7
26.0	26.1	26.3	26.5	26.7	26.9	27.0	27.2	27.4	27.6	27.8	28.0	28.2	28.4	28.6	28.8
27.0	27.1	27.3	27.5	27.7	27.9	28.1	28.3	28.5	28.7	28.9	29.1	29.3	29.5	29.7	29.9
28.0	28.1	28.3	28.5	28.7	28.9	29.1	29.3	29.5	29.7	29.9	30.1	30.3	30.5	30.7	31.0
29.0	29.1	29.3	29.5	29.7	29.9	30.1	30.3	30.5	30.7	30.9	31.1	31.3	31.5	31.7	32.0
30.0	30.1	30.3	30.5	30.7	30.9	31.1	31.3	31.5	31.7	31.9	32.1	32.3	32.5	32.7	33.0
31.0	31.2	31.4	31.6	31.8	32.0	32.2	32.4	32.6	32.8	33.0	33.2	33.4	33.6	33.9	34.1
32.0	32.2	32.4	32.6	32.8	33.0	33.2	33.4	33.6	33.9	34.1	34.3	34.5	34.7	35.0	35.2
33.0	33.2	33.4	33.6	33.8	34.0	34.2	34.4	34.6	34.9	35.2	35.4	35.6	35.8	36.1	36.3
34.0	34.2	34.4	34.6	34.8	35.0	35.2	35.4	35.6	35.9	36.2	36.4	36.7	36.9	37.2	37.4
35.0	35.2	35.4	35.6	35.8	36.0	36.2	36.4	36.6	36.9	37.2	37.4	37.7	38.0	38.3	38.5
36.0	36.2	36.4	36.6	36.9	37.1	37.3	37.5	37.7	38.0	38.3	38.5	38.8	39.1	39.4	39.7
37.0	37.2	37.4	37.6	37.9	38.2	38.4	38.6	38.8	39.1	39.4	39.6	39.9	40.2	40.5	40.8
38.0	38.2	38.4	38.6	38.9	39.2	39.4	39.7	39.9	40.2	40.5	40.7	41.0	41.3	41.6	41.9
39.0	39.2	39.4	39.6	39.9	40.2	40.4	40.7	41.0	41.3	41.6	41.8	42.1	42.4	42.7	43.0
40.0	40.2	40.4	40.6	40.9	41.2	41.4	41.7	42.0	42.3	42.6	42.9	43.2	43.5	43.8	44.1

La densità del latte nella prova di stalla non deve esser determinata appena munto il latte, ma possibilmente 24 ore dopo, perchè essa aumenta col tempo. L'aumento della densità del latte fresco fu osservata la prima volta da Boucharlat ed attribuito alla condensazione della cascina: poi fu confermato da Schröder ed attribuito alla contrazione del grasso che si solidifica. In 19 casi, questi osservò contrazioni che oscillavano tra  $d = 0.2$  e  $2.1$ .

DETERMINAZIONE DELLA DENSITÀ DEL LATTE RAPPRESO. — Weibul, per determinare la densità di un latte rappreso, consiglia di operare nel modo seguente:

Si misura il latte rappreso versandolo in un cilindro, poi si mescola con  $\frac{1}{10}$  circa del suo volume di ammoniacca, della quale si conosca la densità e si agita fino a che sia tutto sciolto. Si misura il miscuglio ammoniacale, se ne determina la densità e si fanno le correzioni come per il latte.

La densità del latte rappreso si ha risolvendo la seguente equazione:

$$Va \times Da + Vl \times Dl = Vm \times Dm \text{ oppure } Dl = \frac{(Vm \times Dm) - (Va \times Da)}{Vl}$$

nella quale  $Va$ ,  $Vl$  e  $Vm$  rappresentano i volumi dell'ammoniacca, del latte e del miscuglio:  $Da$ ,  $Dl$  e  $Dm$  rappresentano la densità dell'ammoniacca, del latte e del miscuglio.

Nella equazione adunque tutto è noto, meno che  $Dl$ .

Eichloff ha controllato il metodo di Weibul ed ha trovato che dà risultati soddisfacenti. Con questo metodo si può determinare la densità del latte rappreso con un errore in più di 0,0006 all'incirca, quando il latte rappreso non è molto vecchio e quando la determinazione della densità della mescolanza non sia fatta molto tempo dopo della unione del latte rappreso con ammoniacca.

Secondo Dorning, la densità del latte rappreso si determina, neutralizzando il latte con una mescolanza alcalina, costituita di 1 p. di soluzione di potassa caustica a 36° B. ( $d = 1.332$ ), e 4 p. di ammoniacca della densità 0,93. Si riscalda tra 50° e 60° per far disciogliere la cascina, si raffredda a 15° e si determina la densità. Questa sarà la densità del latte fresco, poichè la mescolanza alcalina ha la densità di 1,039 e perciò molto prossima a quella del latte. Le differenze rientrano nelle cause d'errore.

### Grasso.

La determinazione del grasso nel latte si può fare per via ottica, per via volumetrica e per via ponderale.

DETERMINAZIONE PER VIA OTTICA. — La determinazione del grasso, per via ottica, è fondata sulla opacità del latte e sulla supposizione che cotesta opacità sia data quasi esclusivamente dal grasso.

Siccome a formare la opacità del latte concorrono, oltre al grasso, la cascina espansa ed il fosfato di calce sospeso, il principio su cui è fondata cotesta determinazione è in parte erroneo, ed erronei devono essere i risultati. Oltre a ciò anche la varia suddivisione del grasso nel latte rende i risultati non confrontabili e poco esatti. Difatti, due latti, contenenti la stessa quantità ponderale di grasso, ma l'uno con globuli grossi, l'altro con globuli piccoli, danno risultati totalmente diversi ai lattoscopi ed il secondo apparirà più ricco di grasso del primo. Cosicché, nei latti scremati, che con-



tengono i globuli di grasso più piccoli, si trovano quantità di grasso sempre molto superiori alle reali.

Il lattoscopio che più comunemente serve per la determinazione del grasso nel latte è quello di Feser.

**LATTOSCOPIO DI FESER.** — Il lattoscopio di Feser è formato di un tubo cilindrico di cristallo, aperto superiormente ed inferiormente terminante con un tubo più stretto e con una chiusura metallica a sfregamento (fig. 250). Il maschio di questa chiusura porta un cilindro di vetro bianco opaco sul quale sono tracciate cinque linee nere, e questo cilindretto si interna nello strumento ad un'altezza quasi eguale a quella del tubo più piccolo. Il cilindro principale porta una graduazione in cmc., e dei numeri indicanti la quantità per cento di grasso contenuto nel latte in corrispondenza dei vari volumi.

Per determinare il grasso con questo apparecchio, si fanno scolare entro il cilindro 4 cmc. di latte, e tanta acqua da rendere nettamente visibili le 5 linee nere del cilindretto. Si legge il volume del liquido e contemporaneamente la quantità di grasso corrispondente. Questa è la quantità contenuta in 100 di latte.

Per ottenere la visione delle linee sarà necessaria naturalmente una quantità maggiore di acqua per un latte molto opaco ed una quantità minore per un latte poco opaco.

I lattoscopi, poichè sono fondati su di un principio non esattamente vero, non possono dare risultati che grossolanamente approssimati alla verità. Contuttociò, essi possono rendere buoni servizi, per indicare la maggiore o minore bontà di un latte, poichè la opacità sta in relazione colla bontà e colla maggiore ricchezza di sostanze fisse ed anche di grasso.

Così si può spiegare perchè qualche volta le indicazioni dei lattoscopi sono molto vicine a quelle forniteci da altri metodi di determinazione del grasso nel latte, molto più esatti e molto più rigorosi.

**DETERMINAZIONE PER VIA VOLUMETRICA.** — Molti sono i metodi proposti per determinare il grasso nel latte, misurando il volume del grasso. I principali ed i più usati sono il metodo di Marchand, il metodo di Adam, il metodo Ramshen Fouard ed il metodo di Gerber.

*Metodo di Marchand.* — La determinazione di grasso con questo metodo è fondata sulla proprietà che ha l'etere di sciogliere il grasso e l'alcool di farlo separare in parte: in modo che determinando la quantità di grasso separato e conoscendo la quantità rimasta in soluzione, si potrà conoscere la quantità di grasso contenuta nel latte.

L'apparecchio, o lattobutirometro, che serve per questa determinazione, è stato, molto opportunamente, modificato da Longi e consiste di due recipienti cilindrici del diametro di circa 25-27 mm., comunicanti tra di loro

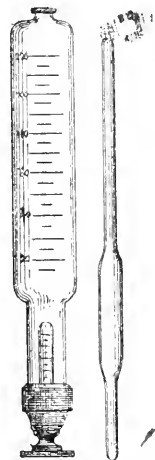


fig. 250.

per mezzo di un tubo di vetro Schellbach, del diametro di 6-7 mm. (fig. 251). Il recipiente inferiore ha una capacità di 26 cmc., il tubo di Schellbach, di 5 cmc., ed il recipiente superiore, di 65-70 cmc. Il tubo Schellbach è diviso in 5 parti ed ognuna in 10 parti, in modo che esso risulta diviso in centimetri cubi ed in decimi. La bocca dell'apparecchio è munita di corto collo, smerigliato nella parte interna, o va chiusa con un buon tappo di sughero.



fig. 251.

Per fare la determinazione del grasso, si versano nel lattobutirometro 10 cmc. di latte, misurati con una pipetta da latte, 20 cmc. di una miscela etero-alcoolica, preparata con :

Alcool a 90 %	. . . . .	cmc. 500
Etere lavato	. . . . .	» 500
Ammoniaca $\bar{d} = 0,92$	. . . . .	» 5
Coccina 2 B q. b.	per saturare la miscela.	

Si chiude l'apparecchio col tappo, si capovolge ed, agitando fortemente, si fa cadere tutto il liquido nel recipiente superiore; quindi, sempre agitando, si riporta il liquido nel recipiente sottostante e si ripete questa agitazione per tre volte. Dopo ciò, i liquidi sono completamente ed uniformemente mescolati ed i grumi caseosi sono ridotti al massimo grado di suddivisione possibile.

Si mette allora il lattobutirometro in un bagno d'acqua che abbia una temperatura tra 39° e 40° C., ed ivi si lascia per 20 minuti; poi si estrae e si legge il volume occupato dalla mescolanza etero-grassa che si è separata.

La lettura con questo apparecchio si fa colla massima facilità e colla precisione non mai raggiunta in apparecchi consimili, costruiti fino ad ora. La coccina, insolubile nel grasso, pernette poi di ben distinguere il piano di separazione tra il grasso giallognolo ed il liquido rosso sottostante, mentre la striscia bleu del vetro Schellbach fa leggere, con grande precisione, il menisco superiore della soluzione etero-grassa. E siccome gli intervalli fra i decimi di cmc. sono abbastanza grandi, si può leggere comodamente e con grande precisione il mezzo decimo e con approssimazione 1 o 2 centesimi.

Determinato il volume della soluzione etero-grassa, si deduce la quantità di grasso contenuto in un litro di latte, ricorrendo alla tabella 46 di Schmidt e Tollens.

I risultati ottenuti con questo metodo, nella massima parte dei casi, si avvicinano a quelli ottenuti col metodo ponderale; solo qualche volta si hanno risultati discordi in più od in meno, che veramente non si sanno a quale causa attribuire. Quindi, il metodo di Marchand, modificato o no, è utile per determinare in modo rapido la quantità di grasso nel latte; ma non è preciso e può talvolta condurre ad errori grossolani. Inoltre, col metodo di Marchand non si può determinare il grasso in un latte che ne contenga meno di 1,260 %, perchè questa è la quantità che rimane costantemente disciolta nella mescolanza etero-alcoolica e che quindi non si rende visibile.

TABELLA DI SCHMIDT E TOLLENS PER LA DETERMINAZIONE DEL GRASSO NEL LATTE COL METODO DI MARCHAND.

TAB. 46.

Cmc. dello strato etero-grasso	Grasso %	Cmc. dello strato etero-grasso	Grasso %	Cmc. dello strato etero-grasso	Grasso %	Cmc. dello strato etero-grasso	Grasso %
0.1	1.339	0.9	2.974	1.7	4.628	2.5	8.042
0.15	1.444	0.95	3.073	1.75	4.792	2.55	8.264
0.2	1.543	1.0	3.175	1.8	4.956	2.6	8.540
0.25	1.645	1.05	3.277	1.85	5.129	2.65	8.759
0.3	1.747	1.1	3.379	1.9	5.306	2.7	9.008
0.35	1.849	1.15	3.481	1.95	5.483	2.75	9.257
0.4	1.951	1.2	3.583	2.00	5.660	2.8	9.506
0.45	2.053	1.25	3.685	2.05	5.837	2.85	9.755
0.5	2.155	1.3	3.787	2.10	6.020	2.9	10.004
0.55	2.257	1.35	3.889	2.15	6.209	2.95	10.253
0.6	2.359	1.4	3.991	2.20	6.518	3.00	10.502
0.65	2.461	1.45	4.093	2.25	6.767	3.05	10.752
0.7	2.563	1.5	4.195	2.30	7.046	3.10	11.000
0.75	2.665	1.55	4.297	2.35	7.265	3.15	11.249
0.8	2.767	1.6	4.399	2.4	7.514	3.20	11.498
0.85	2.869	1.65	4.501	2.45	7.763	3.25	11.747

Differenze in più od in meno di 0,2-0,3 tra il metodo Marchand ed il metodo ponderale sono da considerarsi come soddisfacenti.

*Metodo di Adam.* — L'apparecchio che l'autore ha chiamato galattimetro, è costituito di un tubo graduato da 0 a 70, avente, nella parte superiore, due rigonfiamenti, e, nella parte inferiore una chiavetta a smeriglio ed una punta affilata (fig. 252).

Il rigonfiamento superiore è munito di un'apertura, alla quale si adatta un turacciolo di sughero conico, tagliato inferiormente ad unghia. Nella parte mediana di questo rigonfiamento si trova un segno circolare ed un numero 32, ciò che indica che l'apparecchio, dal rubinetto a questo tratto, ha la capacità di 32 cmc.

Nel punto d'unione dei due rigonfiamenti, vi ha un altro tratto circolare, che porta il numero 10 e ciò indica che l'apparecchio, dal rubinetto a questo segno, ha la capacità di 10 cmc.

La graduazione del tubo è fatta in modo che ogni divisione corrisponda ad 1 gr. di grasso per litro, usando, per la determinazione 10 cmc. di latte.

Per la determinazione del grasso nel latte, si opera nel modo seguente:

Si aspira il latte, versato in un bicchiere, fino al tratto 10, immergendo la punta affilata nel latte. Si chiude il robinetto, si regolarizza il livello del latte, nel caso che ne sia stato aspirato troppo, facendone uscire qualche goccia, e si versa, per l'apertura superiore, tanto liquido normale (1) fino al segno 32. Si chiude l'apparecchio col turacciolo, si inclina per far passare i liquidi nella bolla grande, si scuote dolcemente e si mette su di un sostegno, quando la mescolanza sia diventata omogenea. Dopo un riposo di 5 minuti, il liquido si divide in due strati, uno superiore, limpido, costituito dalla soluzione etero-alcoolica di grasso, l'altro inferiore opalino, contenente l'acqua e tutti gli altri componenti del latte.

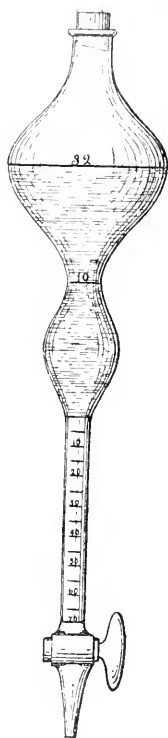


fig. 252.

A questo punto si toglie il turacciolo, si fa scolare il liquido acquoso, aprendo il robinetto, si scuote l'apparecchio per far discendere le goccioline d'acqua che aderiscono alle pareti e si fanno uscire pure pel robinetto.

Si versano poi nell'apparecchio 10 cme. di acqua distillata, facendola scorrere lungo le pareti, e dopo 5 minuti si fanno anch'essi uscire pel robinetto. Finalmente, l'apparecchio riempito con una soluzione di acido acetico 15 % fino al tratto 32, si sospende in un bagno di acqua fredda che vada mano mano riscaldandosi fino a 90° C. L'etere, in queste condizioni, evapora e la materia grassa galleggia alla superficie del liquido, come uno strato giallo, simile all'olio. Si toglie allora l'apparecchio dal bagno, si fa freddare e, aprendo il robinetto, si fa uscire tanto liquido acetico da far passare tutto lo strato di grasso nel tubo graduato. Si rimette l'apparecchio nel bagno, che abbia una temperatura di 40° circa ed ivi si lascia fino a che il grasso sia completamente chiarificato. Si estrae e si legge esattamente il numero delle divisioni, occupate dal grasso, e questo numero esprimerà in grammi il grasso contenuto in un litro di latte.

Questo metodo dà indicazioni molto migliori di quelle fornite dal metodo di Marchand e le quantità di grasso ottenute sono molto prossime a quelle trovate col metodo ponderale.

Oltre a ciò, l'apparecchio è di facile maneggio, poco costoso e la esecuzione del metodo non offre difficoltà di sorta.

*Metodo Ramshen-Fouard.* — Questo metodo è molto pratico, sollecito ed esatto. È fondato sulla separazione del grasso dal latte e sulla sua conseguente determinazione volumetrica. Si versano perciò 36 cme. di latte in un palloncino con collo lungo, stretto e graduato in centimetri cubici ed in decimi e della capacità un po' superiore a 50 cme. Si aggiungono 10 cme. di liquido reattivo (2), si miscela e si immerge il palloncino in un bagnomaria bollente, facendo rotare il collo, di tanto in tanto, tra le mani, per provocare un'agitazione metodica e per facilitare la ascensione delle goccioline di grasso. In 12 minuti l'operazione è terminata: la materia grassa isolata che galleggia sulla superficie del liquido si fa salire nella parte graduata del palloncino, aggiungendo acqua calda. Il volume della materia grassa si legge dopo aver tenuto il palloncino, per un quarto d'ora circa, in un bagno a 40° C. A questa temperatura la den-

(1) Il liquido normale si prepara mescolando:

Alcool ammoniacale a 75° . . . . . cme. 100

Etere puro a 65° . . . . . » 110

L'alcool ammoniacale a 75° si prepara mescolando:

Alcool a 90° . . . . . cme. 833

Ammoniacca  $d = 0,92$  . . . . . » 30

Acqua distillata . . . . . » 137

(2) Il liquido reattivo si prepara, sciogliendo 8 gr. di potassa in 10 cme. di ammoniacca, aggiungendo poi alla soluzione 55 cme. di alcool etilico, 15 cme. di alcool amilico e tanta ammoniacca commerciale da completare il volume di 100.

sità della materia grassa è circa 0,90 ed il calcolo per conoscere la quantità di grasso in grammi per litro si fa colla formola seguente :

$$V \times 0,90 \times \frac{1000}{36}$$

Lezé ha constatato che cotesto metodo dà risultati molto vicini a quelli forniti dal metodo ponderale di Soxhlet e perciò può essere usato con fiducia.

**Metodo di Gerber.** — Il metodo di Gerber è uno dei più facili, più spicci e che, per precisione, gareggia col metodo ponderale. È fondato sulla proprietà che ha l'acido solforico, della densità 1,823-1,825, di sciogliere tutti i componenti del latte meno il grasso.

L'acido-butirometro, con il quale si fa la determinazione, è uno strumento di vetro con un piccolo rigonfiamento in basso ed un grosso rigonfiamento in alto, ove si trova l'apertura (figura 253). Tra i due rigonfiamenti vi è un tubo graduato, diviso in 90 parti, delle quali ognuna rappresenta un grammo di grasso per litro di latte.

Per la determinazione si opera nel modo seguente: Si mettono 10 cmc. di acido solforico, della concentrazione detta, nell'acido-butirometro, si aggiungono 11 cmc. di latte, per mezzo di una pipetta speciale, e finalmente 1 cmc. di alcool amilico. Si chiude l'acido-butirometro con tappo di gomma, si capovolge per far passare tutto il liquido nel rigonfiamento superiore e si agita.

Quando la miscela è divenuta uniforme, si centrifuga, colla centrifuga Gerber (fig. 254), per 15 minuti ininterrottamente. In questa operazione, si separa completamente il grasso dal liquido acido-acquoso e galleggia; allora l'acido-butirometro colla bocca in basso si immerge in un bagno d'acqua alla temperatura di 70° C. e quivi si tiene per 10 minuti circa. Poi si estrae e si legge, nel tubo graduato, il numero di divisioni occupate dal grasso, ed esse rappresentano i grammi di grasso contenuti in un litro di latte.

Il metodo di Geber, in confronto col metodo ponderale di Soxhlet, dà indicazioni sempre più basse. Le differenze non raggiungono mai — 0,1 % (1).

(1) Torner ha proposto recentemente di sostituire all'acido solforico una soluzione di soda, erchè con questa i grassi saponificano meno che coll'acido solforico.



fig. 253.

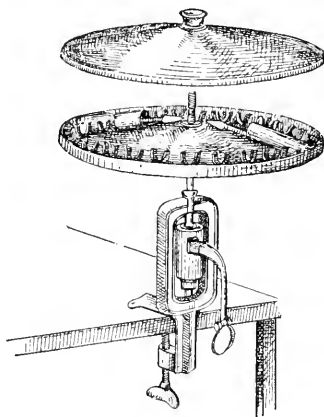


fig. 254.

DETERMINAZIONE PONDERALE. — Il metodo col quale si può estrarre e pesare il grasso contenuto in un determinato volume di latte è il più esatto di quanti siano stati fino ad ora descritti. Meriterebbe, per conseguenza, di essere ad essi preferito; ma non essendo di esecuzione rapida, non trova, negli usi comuni, applicazione se non in casi eccezionali.

*Metodo Soxhlet* — Si mettono in una capsula di porcellana 10 cmc. di latte e si mescolano con una sufficiente quantità di sabbia, arroventata in precedenza. Si fa evaporare l'acqua, mettendo la capsula su di un bagnomaria, ed avendo cura di rimescolare, con una bacchetta di vetro, durante l'evaporazione. Il residuo, quando è secco, si distacca accuratamente dalle pareti della capsula, mediante una spatolina di platino o di nichel e si introduce in un cilindretto di carta bibula, digrassata con etere, insieme ai lavaggi successivi della capsula, fatti pure con sabbia. Il cilindretto si chiude accuratamente, si avvolge ancora in altra carta bibula, si lega con filo di platino e si introduce nell'estrattore. Questo (fig. 255) è costituito di un tubo di vetro lungo 15, largo 3,5 cm. circa, chiuso inferiormente e comunicante solo con un tubicino, che salendo per alcuni centimetri a ridosso del tubo principale e ripiegandosi, discende a sifone internandosi in un tubo che serve da sostegno al principale. Un altro tubo laterale, piuttosto grande, stabilisce un'altra comunicazione fra questo tubo di sostegno ed il principale.

L'estrattore, che ha ricevuto il cilindretto, si congiunge con un refrigerante a corrente continua ed inferiormente con un matraccio, della capacità di 100 cmc. circa, pesato antecedentemente vuoto e secco e contenente 60 cmc. di etere di petrolio (1). Si riscalda in bagno d'acqua; l'etere, che si evapora, entra nell'estrattore, per il tubo laterale grande, arriva al refrigerante ed ivi, per la bassa temperatura, si condensa e cade gocciola a gocciola sopra il cilindretto di carta contenente la sostanza da estrarre. Dopo un certo tempo, l'etere invade il pacchetto, lo copre e final-

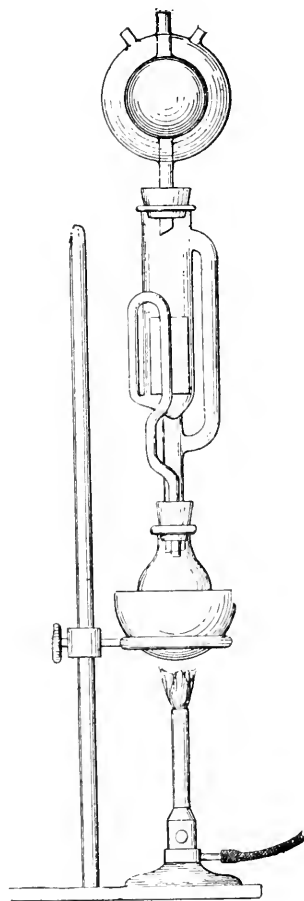


fig. 255.

(1) Nel metodo originale di Soxhlet è prescritto l'etere solforico.

mente, arrivato all'altezza della ripiegatura del tubo sottile, è costretto a cadere nel matraccio, da dove si era evaporato, trasportando con sè il grasso che ha potuto disciogliere. L'etere di petrolio si evapora di nuovo, risale, invade il pacchetto, ricade e trasporta nel matraccio nuovo grasso. L'apparecchio si fa funzionare così per 48 ore, fino a che, cioè, si è sicuri che la sostanza, contenuta nel pacchetto, sia stata privata del grasso completamente. Allora si distilla l'etere di petrolio, il matraccio si mette in stufa riscaldata a 100° C., ove si tiene per 3 ore, poi si fa freddare e si pesa. La differenza di peso tra il matraccio vuoto ed il matraccio con grasso, dà la quantità di grasso contenuto in 10 cmc. di latte: moltiplicando questa quantità per 10 si ha la quantità di grasso in 100 di latte.

Manetti e Musso hanno osservato che, usando l'etere solforico, come solvente, si estraggono, oltre il grasso, anche altre sostanze che nulla hanno da fare col grasso. Difatti, l'estratto etereo, segnatamente quello ottenuto dal latte poco recente, mostra, in mezzo alla sostanza grassa omogenea, delle goccioline di un liquido rosso-bruno, solubile nell'acqua e nell'etere, insolubile nel solfuro di carbonio. Coll'uso dell'etere di petrolio però questo inconveniente è, in parte, eliminato, perchè questo ha un potere solvente minore dell'etere solforico per le sostanze estranee al grasso.

Perciò col metodo ponderale di Soxhlet si ottiene, in tutti i modi, una quantità di grasso un pochino superiore alla reale.

La quantità di grasso nel latte può oscillare entro limiti molto vasti; cioè tra 1,67 e 6,47. Come media si può ritenere 3 %.

### **Determinazione delle sostanze azotate albuminoidi e non albuminoidi.**

*Metodo Kjeldahl.* — Le sostanze azotate del latte si determinano in *toto* procedendo nel modo seguente:

Si misurano, con una pipetta speciale, 10 cmc. di latte e si versano in un pallone di vetro di Jena, della capacità di 800 cmc. circa. Si uniscono con 10 cmc. di acido solforico concentrato, esente di prodotti nitrosi, e con 25 ctg. di solfato di rame e 25 ctg. di ossido rosso di mercurio. Si scalda prima con fiamma debole, poi con fiamma più forte, fino a che sia scomparsa ogni traccia di carbone, prodottosi per la disgregazione della materia organica a contatto dell'acido solforico. Si lascia raffreddare, si allunga il residuo con 250 cmc. circa di acqua, esente di ammoniacca, si neutralizza l'acido eccedente, con soda caustica, si alcalizza fortemente e si aggiungono alcune gocce di solfuro di sodio, per precipitare il mercurio ed il rame ed impedir loro di contrarre combinazioni stabili coll'ammoniaca, sottraendola alla determinazione. Finalmente si aggiungono alcuni pezzetti di pomice per regolare poi la ebollizione del liquido.

Si congiunge allora il pallone con un refrigerante, si distilla e si raccoglie il distillato in apposito matraccio, contenente 25 cmc. di acido normale decimo.

Siccome l'azoto della materia organica è stato trasformato, per le operazioni antecedenti, in azoto ammoniacale, nel distillato dovrà passare tanta ammoniaca corrispondente all'azoto predetto; ammoniaca, che si trasformerà immediatamente in sale ammoniacale, consumando l'acido che è stato messo nel matraccio, ove si raccoglie il distillato.

Si cessa di distillare quando, avvicinando una cartina di tornasole rossa ad una goccia di liquido che discende dal distillatore, essa non diviene più bleu; segno che nel distillato non vi è più ammoniaca.

Si determina poi la quantità di ammoniaca e successivamente di azoto, contenuto nei 10 cmc. di latte, determinando l'acido rimasto inalterato dopo distillazione o per via iodometrica o per mezzo di una soluzione *N* 10 di potassa (1) e della fenoltaleina, come indicatore, e la differenza moltiplicandola per 0,014 per avere l'azoto e per 0,017 per avere l'ammoniaca. Se ora si voglia trasformare l'azoto in sostanza azotata basterà moltiplicarlo per 6,37 (Sholossmann. *Viertelj. für Nahrq. und Genussm.* 1896, p. 483), e se la sostanza azotata si voglia riferire a 100 basterà moltiplicare il numero ottenuto per 10.

Si capisce facilmente che in questo modo si determina non solo l'azoto delle sostanze albuminoidi, ma anche l'azoto delle sostanze non albuminoidi, che si trovano nel latte e che non sono sostanze nutrienti. Per eliminare questo errore, si determina separatamente la caseina, la lattalbumina e la proteina contenute nel latte. Si procede nel modo indicato da Sholossmann.

Si pigliano 10 cmc. di latte e si allungano con 30 o 50 cmc. di acqua. La mescolanza si riscalda a 40° C. e si tratta con 1 cmc. di una soluzione concentrata di allume di potassio; si agita e si osserva se si produca un precipitato fioccoso, che si depositi rapidamente. Se ciò non avvenga, si aggiunge ancora  $\frac{1}{2}$  cmc. di soluzione di allume ed altro ancora, finchè non si produca il precipitato come sopra, avvertendo che un eccesso di allume (1 cmc.) non produce alcun danno. Si filtra, si lava con acqua distillata il precipitato raccolto nel filtro, e se ne determina l'azoto col metodo di Kjeldhal. Moltiplicando l'azoto trovato per 6,37 si ha la caseina contenuta in 10 cmc. di latte, poichè nelle condizioni sopra descritte, non precipita altro che la caseina. È necessario che durante tutta l'operazione la temperatura si mantenga a 40° precisi.

La lattalbumina, la globulina e la proteina si determinano precipitandole dal filtrato con 10 cmc di soluzione forte di tannino, raccogliendo il precipitato sul filtro, lavandolo tre volte con acqua distillata e determinando in esso l'azoto col metodo di Kjeldhal. Moltiplicando l'azoto per 6,37 si ha la lattalbumina e la proteina insieme.

Inoltre, le sostanze albuminoidi totali del latte si possono determinare precipitandole coll'acido tricloroacetico (Bodzynski) in soluzione 15  $\frac{0}{10}$ .

(1) La soluzione *N*/10 di acido si prepara sciogliendo in un litro di acqua distillata un equivalente molecolare di acido, espresso in grammi, diviso per 10. La soluzione normale decima di potassa si fa nell'identico modo.

Queste due soluzioni, quando sono ben fatte, si neutralizzano esattamente volume a volume.



Si misurano perciò 10 emc. di latte, si trattano con 10 emc. di soluzione di acido tricloroacetico e si lascia in riposo per alcune ore. Poi si filtra, il precipitato, raccolto sul filtro, si lava con soluzione diluita di acido tricloroacetico ed in esso si determina l'azoto col metodo Kjeldhal.

I risultati sono ottimi e vanno d'accordo con quelli ottenuti col metodo di Sebelien, precipitando le sostanze albuminoidi con acido tannico.

La quantità delle sostanze albuminoidi oscilla entro limiti molto vasti: tra 2,07 e 6,40. La media è 2,55. Seindendole, troviamo che la caseina oscilla tra 1,79 e 6,29; in media 3,02 e la lattalbumina fra 0,25 ed 1,44: in media 0,53.

Nel latte di vacca, il rapporto tra la caesina e le sostanze albuminoidi solubili nell'acqua sta come 10 : 1.

### **Determinazione dello zucchero di latte.**

DETERMINAZIONE PER VIA POLARIMETRICA. — Per determinare lo zucchero di latte, servendosi del polarimetro, si procede nel modo seguente:

50 emc. di latte si fanno bollire per evitare l'errore della multirotazione dello zucchero, si versano poi in una boccetta tarata di 100 emc., si mescolano con 5 emc. di soluzione di ioduro di mercurio e potassio (reattivo di Brücke) e tanta soluzione di acido solforico 20 % sufficiente per precipitare tutte le sostanze albuminoidi. Si porta a 100 emc., si filtra e del filtrato si determina il potere rotatorio, riempiendone un tubo polarimetrico della lunghezza di 200 mm. ed osservando e misurando la deviazione angolare al polarimetro di Laurent.

La quantità di zucchero di latte si ottiene, raddoppiando i gradi di rotazione letti e moltiplicando questo numero per il coefficiente 0,94, che è specifico per il polarimetro sopra detto.

Questo numero è affetto dall'errore in più, prodotto dal volume del precipitato delle sostanze albuminoidi, che, in ogni caso, deve essere sottratto da 100. Cotesto volume raggiunge in media, secondo Scheibe, nel latte intero, con una quantità di grasso oscillante tra 2,8 e 4,7 %, emc. 4 e nel latte scremato, emc 2, mantenendo la proporzione nella mescolanza detta dianzi. Nel caso del latte intero, la correzione si avrà moltiplicando la quantità di zucchero trovata per 0,96, nel caso del latte scremato per 0,98 (Scheibe).

Il reattivo di Brücke si prepara sciogliendo 40 gr. di ioduro di potassio in 400 emc. di acqua distillata e dibattuto questa soluzione con 55 gr. di ossido di mercurio. Si porta a 500 emc. e si filtra per allontanare l'eccesso di ossido di mercurio rimasto indisciolto.

DETERMINAZIONE PER RIDUZIONE DEI SALI DI RAME. — 50 emc. di liquido di Fehling si mescolano con 50 emc. di acqua distillata in un matraccio Erlenmayer e si portano all'ebollizione. Poi si aggiunge lentamente il siero, depurato,

secondo, Appiani con acetato di piombo ed acetato di mercurio (1), fino a che il liquido non offra più colorazione azzurra dopo 6 o 7 minuti di ebollizione.

Con questo saggio preliminare si calcola approssimativamente la quantità di zucchero contenuto nel siero (50 cmc. di Fehling (2) corrispondono a gr. 0,3380 di zucchero di latte anidro ed a gr. 0,3558 di zucchero ordinario con una molecola d'acqua di cristallizzazione) e si diluisce la soluzione zuccherina in modo che contenga 1% di zucchero. Allora si scaldano di nuovo 50 cmc. di soluzione di Fehling, mescolati con 50 cmc. di acqua, fino all'ebollizione e si versano nella mescolanza, in una sola volta, 33 o 34 cmc. della soluzione zuccherina diluita e dopo 6 o 7 minuti di ebollizione si filtra rapidamente a caldo su filtro a pieghe. Per assicurarsi se il filtrato contenga rame, si acidifica con acido acetico e si tratta con ferrocianuro di potassio, il quale, in presenza di rame, produrrà una colorazione rosso bruna più o meno intensa a seconda della quantità di rame presente. Se il filtrato contenga rame si ripete un nuovo saggio, adoperando quantità maggiore di liquido zuccherino e ciò si farà fino a che tra due saggi consecutivi non vi sia che una differenza di 0,1 cmc. di liquido zuccherino ed in uno vi sia la reazione del rame ed in un altro non. La media rappresenta la quantità necessaria di liquido zuccherino per ridurre cmc. 50 di soluzione di Fehling.

Questo processo si può rendere più spiccio nel modo seguente: invece, cioè, di filtrare tutto il liquido per vedere se contenga rame, se ne filtra solo una goccia, come ha suggerito Baswitz, mettendola su due cartine sovrapposte di carta da filtro e provando la reazione, nella cartolina inferiore, con ferrocianuro di potassio acidificato con acido acetico. La reazione è forse meno sensibile, ma praticamente molto utile, perchè permette di fare una determinazione di zucchero con sufficiente esattezza e con molta rapidità con 2 o 3 saggi al più.

Il lattosio si mantiene abbastanza costante nel latte. La quantità oscilla tra 2,11 e 6,12; la media è 4,88.

### Determinazione delle sostanze solide.

**METODO INDIRECTO.** — Le sostanze solide del latte possono essere determinate, per via indiretta, ossia per mezzo del calcolo, quando si conosca la densità del latte a 15° C e la quantità di grasso per cento. Per questo calcolo, la formula, proposta da Fleischmann, è la più attendibile, ed è la seguente:

$$T = 1,2 G + 2,665 \frac{100 D - 100}{D}$$

(1) Appiani propone, per togliere tutte le sostanze albuminoidi, di aggiungere a 50 cmc. di latte 20 o 25 cmc. di soluzione di acetato di piombo e 2 o 3 cmc. di acetato di mercurio 10%. Si filtra, si spiomba con solfato di soda, si filtra ancora e si diluisce a 100.

(2) Per fare il liquido di Fehling si sciolgono 34,639 di solfato di rame puro e cristallizzato in 500 cmc. di acqua distillata; si sciolgono inoltre 173 gr. di sale di Seignette, 50 gr. di soda caustica in altri 500 cmc. di acqua distillata.

Le due soluzioni si tengono separate e si mescolano a volumi eguali per preparare il liquido di Fehling e poco prima della determinazione.

In essa  $T$  indica la quantità delle sostanze solide,  $G$  il grasso per cento,  $D$  la densità del latte a  $15^{\circ}$  C.

Così se un latte abbia dato una densità di 1,0315 ed una quantità di grasso di 3,50 %, si avrà

$$T = 1,2 \times 3,50 + 2,665 \times \frac{(100 \times 1,0315) - 100}{1,0315}$$

$$T = 12,33.$$

Questa formola dà indicazioni abbastanza buone; difatti, numerose esperienze hanno dimostrato che le differenze tra la quantità di materia solida avuta con il calcolo e la quantità avuta col metodo diretto, stanno tra + 0,13 e - 0,22 per cento.

La quantità di sostanze solide nel latte oscilla tra 16,03 ed 8,50: la media è 12,58 %.

#### Determinazione delle ceneri.

Per determinare le ceneri, si mettono 20 cmc. di latte in una capsula di platino pesata, alcune gocce di acido acetico e tutto si fa evaporare in bagnomaria fino a secchezza. Poi si brucia il residuo, esponendo la capsula in una fiamma a gas che, gradatamente aumenti in altezza fino ad arroventare leggermente la capsula. Si smette di riscaldare quando le ceneri siano divenute perfettamente bianche. Allora la capsula si fa freddare in un essiccatore e si pesa. La differenza tra questo peso e quello della capsula, moltiplicata per 5, dà la quantità di ceneri in 100 di latte.

La quantità delle ceneri oscilla tra 0,35 ed 1,21 %: la media è 0,71 %.

#### Determinazione dell'acidità.

L'acidità si determina neutralizzando, secondo Soxhlet ed Henkel, con potassa  $N_{10}$ , 50 cmc. di latte, al quale siano stati aggiunti 2 cmc. di soluzione alcoolica di fenoltaleina 2 %. L'acidità si esprime in cmc. di alcali  $N_{10}$  per cento, il quale numero è stato chiamato anche *numero dell'acido*. Per la titolazione dell'acidità, piuttosto che la soluzione di potassa o soda caustica  $N_{10}$ , si usa l'acqua di calce, di cui si determina il titolo, volta per volta (Holm), oppure una soluzione  $N_{10}$  di barite (Wieth e Siegfeld).

Un latte normale non deve avere un grado acido superiore a 3,5 o 4, secondo Pfeiffer; invece Wieth e Siegfeld hanno trovato che il grado acido normale può oscillare tra 13 o 19. Secondo Törner e Pfeiffer, il latte che abbia un grado acido di 23 coagula per riscaldamento.

#### Latte stantivo.

Per conoscere se un latte sia fresco o stantio, si versano in esso alcune gocce di soluzione di indico carminio fino a che apparisca nettamente bleu e si osserva il tempo che impiega per decolorarsi. Un latte stantio o già in preda a fermentazioni batteriche si decolorerà rapidamente, un latte fresco meno rapidamente. Il riscaldamento favorisce la decolorazione.

COMPOSIZIONE DEL LATTE DI VACCA E DI ALCUNI ALTRI ANIMALI.

TAB. 47.

	Densità			Acqua			Caseina			Lattalbumina			Sostanza azotata			Grasso			Lattosio			Ceneri		
	Massima	Media	Minima	Massima	Media	Minima	Massima	Media	Minima	Massima	Media	Minima	Massima	Media	Minima	Massima	Media	Minima	Massima	Media	Minima	Massima	Media	Minima
Vacca (800 analisi) . . . . .	1.0370	1.0345	1.0264	90.69	87.47	89.32	6.29	3.02	1.79	1.44	0.53	0.25	6.40	3.55	2.07	6.47	3.69	1.07	6.12	4.88	2.41	1.21	0.74	0.35
Capra (100 analisi) . . . . .	1.0360	1.0305	1.0280	90.46	85.74	82.02	3.94	3.20	2.44	2.01	1.09	0.78	—	—	—	7.53	4.78	3.40	5.77	4.46	3.26	1.06	0.76	0.39
Pecora (32 analisi) . . . . .	1.0385	1.0344	1.0298	87.02	80.82	74.47	3.69	4.97	3.59	1.77	1.55	0.83	—	—	—	9.80	6.86	2.81	7.95	4.91	2.76	1.72	0.89	0.43
Bufala . . . . .	—	1.0349	—	—	80.60	—	—	4.30	—	1.30	—	—	—	—	—	8.50	—	—	4.50	—	—	—	0.80	—
Asina (5 analisi) . . . . .	—	1.0370	—	—	89.64	—	—	0.67	—	1.55	—	—	—	—	—	4.64	—	—	5.99	—	—	—	0.51	—
Cavalla . . . . .	—	1.0349	—	—	90.06	—	—	4.89	—	—	—	—	—	—	—	1.09	—	—	6.65	—	—	—	0.31	—
Donna (200 analisi) . . . . .	—	1.033	—	91.40	87.44	84.09	4.96	1.03	0.18	2.36	1.26	0.32	4.70	2.29	0.69	6.83	3.78	1.43	8.34	6.21	3.88	1.90	0.31	0.12

Il latte fresco rimane colorato 12 ore all'incirca ad una temperatura al disotto di 15° C., tra 15° e 20° almeno 8 ore, sopra 20° almeno 4 ore (Vaudin).

### Sofisticazioni del latte.

Le sofisticazioni del latte consistono o in una *sottrazione della crema*, o in una *sottrazione della crema ed in un'aggiunta d'acqua*, o in un'aggiunta di acqua semplicemente, oppure in un'aggiunta di acqua e di alcune sostanze che fanno elevare la densità del latte.

**SOTTRAZIONE DELLA CREMA.** — Questa sofisticazione si scopre, determinando la densità del latte e la quantità di grasso. La densità del latte sarà superiore a quella del latte intero ed oscillerà tra 1,033 e 1,037; la quantità di grasso sarà inferiore alla media normale 3 % . Quando questi due dati analitici si corrispondono, si può concludere che il latte sia stato scremato in tutto od in parte.

**SOTTRAZIONE DELLA CREMA ED AGGIUNTA DI ACQUA.** — Questa sofisticazione si scopre determinando la quantità di grasso e la densità del siero del latte.

La densità del latte in questo caso non dà alcuna indicazione utile, perchè se la scrematura fa aumentare la densità, l'acqua la fa discendere e precisamente entro i limiti stabiliti per il latte intero, quando essa sia aggiunta nella quantità del 10 % soltanto. Ma, se esiste cotesto equilibrio nel latte, non esiste più nel siero, il quale dovrà, nel caso dell'ammaccamento, avere una densità più bassa della normale. Da numerose esperienze si è visto che nei latti naturali cotesta densità a 15° C. oscilla tra 1,027 e 1,031 e che non va mai al disotto di 1,027.

La densità del siero si determina nel modo seguente:

Si misurano 200 cmc. di latte, si versano in un matraccio e tutto si pesa esattamente. Poi si aggiungono al latte 4 o 5 gocce di acido acetico concentrato, si scalda in bagnomaria bollente per 10 minuti, si lascia raffreddare e si pesa nuovamente. Si sostituisce, con acqua distillata, la perdita subita per evaporazione e si filtra attraverso lana di vetro. Il filtrato si pesa, si scalda in bagnomaria bollente per 20 minuti, allo scopo di far coagulare tutta la lattalbumina, si fa raffreddare, si pesa nuovamente, si sostituisce la perdita con acqua distillata, si filtra e si rifultra per carta sino ad avere un siero limpido.

La densità di questo siero si può determinare o colla bilancia di Westphal o col sierodensimetro di Greiner, dopo averlo portato alla temperatura di 15° C., oppure correggendo la densità, per le temperature superiori od inferiori a 15°, sapendo che la densità diminuisce od aumenta di 0,00032 per ogni grado di temperatura superiore od inferiore a 15°. Queste correzioni però, come per il latte, non sono più rispondenti alla realtà quando la temperatura del siero sia molto distante dai 15°. Perciò è consigliabile, in questi casi, di raffreddare o di riscaldare il siero per fargli acquistare la temperatura più vicina possibile ai 15° C.

La densità del siero non varia collo stato di conservazione del latte. Dopo la coagulazione spontanea si hanno differenze piccolissime che rientrano nelle cause d'errore di determinazione. Da questo momento in poi la densità del siero diminuisce in ragione dell'alterazione (Montella, Reinsch e Lübrig).

Se ora la quantità di grasso sia sotto alla normale e se la densità del latte sia compresa entro i limiti assegnati per la densità del latte intero e se la densità del siero stia sotto 1,027, si può concludere che il latte sia stato scremato ed annacquato col 10 % di acqua.

AGGIUNTA SEMPLICE DI ACQUA. — Quando ad un latte si aggiunga acqua, la densità diminuisce; diminuisce la quantità di grasso e diminuisce la densità del siero. Basterà ricorrere alle tre determinazioni dette per riconoscere cotesta sofisticazione.

La quantità di acqua aggiunta si calcola poi approssimativamente dalla densità del latte o del siero, ricorrendo alla tabella 48.

TAB. 48

Latte intero		Latte scremato		Siero di latte	
Densità a 15°	Acqua %	Densità a 15°	Acqua %	Densità a 15°	Acqua %
1.029-1.033	0	1.033-1.037	0	1.027	0
1.026-1.029	40	1.031-1.033	40	1.027-1.026	5-40
1.023-1.026	20	1.026-1.030	20	1.026-1.024	10-15
1.020-1.023	30	1.023-1.026	30	1.024-1.023	15-20
1.017-1.020	40	1.020-1.023	40	1.023-1.019	20-35
1.014-1.017	50	1.016-1.020	50	1.019-1.017	35-40
				1.017-1.015	40-50

Inoltre si potrà conoscere se un latte sia stato o non annacquato, ricorrendo alla prova dell'acido nitrico, perchè il latte puro non contiene nitrati (Schrodt) mentre è raro che le acque potabili, che servono per l'annacquamento del latte, non ne contengano.

Per ricercare i nitrati nel latte, si opera nel modo seguente:

100 emc. di latte si trattano con 1,5 emc. di una soluzione di cloruro di calcio 20 %, si riscaldano a bagnomaria e si filtrano. Si mettono 2 emc. di soluzione di solfato di difenilammina (1) in un piattellino di porcellana e nel mezzo di questa soluzione si fa gocciolare  $\frac{1}{2}$  emc. di siero all'incirca e si lascia in riposo due o tre minuti senza mescolare. Dopo questo tempo, se nel siero vi sia dell'acido nitrico, compariranno delle strie bleu, corrispondenti ai punti di contatto del siero colla soluzione di difenilammina.

In questo modo si possono scoprire 3 o 4 mg. di acido nitrico in un litro di latte (Möslinger).

(1) Per la preparazione del reattivo, vedi acido nitrico nell'acqua.

La presenza dei nitrati nel latte non è sempre indizio sicuro di annacquamento, perchè le particelle di letame che in esso cadono molto frequentemente, vi portano quantità di nitrati talvolta non indifferenti.

AGGIUNTA DI ACQUA E CONTEMPORANEAMENTE DI SOSTANZE CHE FANNO RIELEVARE LA DENSITÀ DEL LATTE E DEL SIERO. — In questo caso, determinando la densità del latte e del siero, si può credere che il latte sia naturale quando esso invece è doppiamente sofisticato. Perciò non si trascurerà mai di ricercare l'*amido* e la *destrina* che possono essere facilmente aggiunti ad un latte annacquato per lo scopo anzidetto.

L'*amido* si ricerca, trattando il latte, messo in un tubo da saggio, con un po' di tintura di iodio. Se assuma una colorazione bluastra, si può arguire la presenza dell'*amido*, se assuma una colorazione gialla, si può, nella maggior parte dei casi, escluderne la presenza. In tutti i modi non si trascurerà mai di fare una osservazione microscopica.

La *destrina* si ricerca nel modo seguente:

50 emc. di latte si mescolano con alcune gocce di acido acetico, si riscaldano a bagnomaria per 20 minuti e si filtrano per carta. Il filtrato limpido si tratta con il doppio volume di alcool 95<sup>o</sup>, per far precipitare la *destrina*; si aspetta che il precipitato si deponga nel fondo del recipiente, poi si decanta il liquido limpido soprastante ed il precipitato si raccoglie su di un filtro di carta. Il precipitato, lavato con alcool, si scioglie in poca acqua distillata e la soluzione si saggia colla tintura di iodio. Se il liquido piglia una colorazione rosso-mattone, si potrà concludere che al latte sia stata aggiunta *destrina*.

Anche il latte di pecora, che ha una densità ed una quantità di grasso molto elevata, può servire a nascondere l'annacquamento del latte. In questo caso la densità del siero è sufficiente a scoprire la sofisticazione, poichè, se acqua sia stata aggiunta, essa andrà sotto 1,0270. La mescolanza di latte di pecora a quello di vacca si può scoprire anche colla sieroreazione.

AGGIUNTA DI ACQUA ZUCCHERATA. — Una soluzione di zucchero di canna 75 per mille serve molto opportunamente per sofisticare il latte, perchè ha una densità, presso a poco, eguale a quella del latte (Cotton).

Per iscoprire la sofisticazione si opera nel modo seguente:

10 emc. di latte si mettono in un tubo da saggio, si aggiungono gr. 0,50 di molibdato d'ammonio in polvere e 10 emc. di soluzione 1:10 di acido cloridrico. Si riscalda fino ad 80° in bagno freddo e si osservano i cambiamenti di colorito: il latte sofisticato piglia una intensa colorazione bleu, mentre il latte puro rimane scolorato. La reazione si manifesta anche quando il latte contenga 1 gr. di zucchero per litro.

#### Modo di conservare il latte.

Il latte, lasciato a sè, dopo un certo tempo si inacidisce e coagula, ed allora non può più servire all'alimentazione umana ed al caseificio. Per evitare tale inconveniente, il latte o si congela e si trasporta in blocchi, come si fa in Danimarca, o si con-

centra e si chiude in scattole, o si fa *bollire* poco dopo la mungitura, oppure gli si aggiunge *bicarbonato di soda*, *acido salicilico*, *acido borico formalina*, od acqua ossigenata. Di questi mezzi di conservazione, i primi tre sono permessi, gli altri proibiti.

**BOLLITURA DEL LATTE.** — La bollitura del latte si fa collo scopo di uccidere quei microrganismi che trasformando, nei loro atti vitali, il lattosio, in acido lattico, sono causa indiretta della coagulazione del latte. Questo mezzo di conservazione può essere applicato al latte che deve servire per alimento, ma non al latte pel caseificio, perchè, come si è visto, il latte bollito non può dare il formaggio ordinario. Esso inoltre è un mezzo che non conferisce al latte la proprietà di conservarsi a lungo, purchè non si metta in bottiglie speciali e si sterilizzi; ma semplicemente dodici o ventiquattro ore, a seconda della stagione.

Per conoscere se un latte sia stato bollito, si ricorre alla reazione di Arnold.

Si mette un po' di latte in un piattellino di porcellana o in un tubo da saggio e si unisce col 10 % circa di tintura di resina di guajaco, o meglio con tintura di legno di guajaco (Glage). Se, dopo un minuto primo, non si veda una colorazione azzurro-verdognola, è segno che il latte è stato bollito, perchè, in queste condizioni, non reagisce più colla tintura di guajaco.

Storch, invece, propone di operare nel modo seguente: 15 gr. circa di latte si dibattono in un tubo da saggio con 1 goccia di soluzione di acqua ossigenata (1) e 2 gocce di soluzione di parafenilendiammina (2). Se il latte si colora fortemente ed immediatamente in blu indaco ed il siero in rosso bruno, vuol dire che non è stato riscaldato tra 79° ed 80° C., se conservi il colorito bianco, vuol dire che è stato riscaldato sopra 80°.

Il principio attivo che agisce tanto sulla tintura di guajaco, quanto sull'acqua ossigenata sembra che sia una diastasi, la quale si distrugge al di sopra di 80°. La colorazione che si ottiene col processo di Storch è dovuta all'ossigeno, liberatosi dall'acqua ossigenata per azione della diastasi, e che agisce sulla parafenilendiammina.

Besana ha osservato che il latte condensato si comporta, rispetto alla tintura di guajaco, nello stesso modo del latte normale; cioè, disciolto in acqua, si colora in verde-azzurrognolo colla tintura di guajaco; bollito non si colora più.

### Bicarbonato di sodio.

Il bicarbonato di sodio si aggiunge al latte nella proporzione di 1 o 1,5 <sup>gr.</sup>/<sub>litro</sub>, per impedirne la coagulazione. Il bicarbonato di sodio, in questo caso, non agisce da antisettico, ma da neutralizzante: mano mano, cioè, che dalla fermentazione lattica si viene formando acido lattico, esso lo neutralizza e lo mette in condizione di non agire sulla caseina e di non coagularla.

(1) La soluzione di acqua ossigenata si prepara allungando con 5 volumi di acqua distillata 1 volume di acqua ossigenata 1 % e si aggiunge 1 emc. di acido solforico in un litro.

(2) La soluzione di parafenilendiammina si prepara sciogliendone 1 gr. in 50 emc. di acqua calda. Si filtra e si mantiene in boccetta senza in luogo fresco.



Il bicarbonato di sodio si ricerca mescolando in un becher 100 cmc. di latte con 5 o 10 cmc. di soluzione alcoolica di alizarina 2 ‰. In presenza di bicarbonato, il liquido diviene rosa, in assenza rimane colorato in giallo. In questo modo si possono scoprire nel latte fino 0,05 ‰ di bicarbonato.

La soluzione di alizarina si ottiene facilmente con alcool 90 ‰ e riscaldando leggermente in bagnomaria (Süss).

### Acido salicilico.

L'acido salicilico è un antisettico e si aggiunge al latte per impedire lo sviluppo di quei microrganismi che producono acido lattico. Nella quantità di mezzo grammo per litro, impedisce la coagulazione spontanea del latte, per parecchi giorni, alla temperatura ordinaria.

L'acido salicilico si ricerca nel modo seguente:

A 25 cmc. di latte, diluito con altrettanti di acqua, si aggiungono 10 cmc. di soluzione di solfato di rame (Febling) e 2,5 cmc. di soluzione normale di potassa, in modo che il liquido reagisca ancora acido. Si riscalda per un certo tempo a bagnomaria e si filtra. Al siero chiaro si aggiungono alcune gocce di acido cloridrico e si dibatte con etere. Si separa l'etere, si fa evaporare ed il residuo si scioglie con alcune gocce di alcool e si tratta con cloruro ferrico diluito (Brønstedt).

In presenza di acido salicilico, si avrà una bella colorazione violetta, dovuta alla formazione dell'acido ferrisalicilico.

Più semplicemente la ricerca dell'acido salicilico nel latte si fa nel modo seguente:

In un comune tubo da saggio si versano 5 o 6 cmc. di latte e si diluiscono con altrettanta quantità di acqua; si aggiungono poi 5 gocce di una soluzione di nitrito di potassio al 10 ‰, una goccia di acido acetico e 5 gocce di soluzione di solfato di rame al 10 ‰, e si riscalda, per qualche tempo, a bagnomaria. La caseina coagulata cala al fondo del tubo, e il siero limpido soprastante rimane colorato in rosso più o meno intenso a seconda della quantità di acido salicilico contenuto nel latte. In assenza di acido salicilico il siero rimane colorato in verde azzurrognolo. La sensibilità della reazione è di 1:20000 (Jorissen-Bochicchio).

### Acido borico.

L'acido borico è anche un antisettico ed è capace di impedire la coagulazione spontanea del latte, per parecchi giorni, alla temperatura ordinaria, alla dose di gr. 1 per litro.

Farrington ha proposto, per la ricerca dell'acido borico nel latte, di approfittare della proprietà, che detto acido possiede, di fare aumentare l'acidità del latte di una quantità superiore a quella corrispondente all'acido borico aggiunto, sia, come ha dimostrato Denigès, per azione dello zucchero di latte, sia anche per azione della glicerina che può essere aggiunta.

La ricerca si fa nel modo seguente:

20 cmc. di latte si uniscono con alcune gocce di soluzione alcoolica di fenolfaleina e si titolano con alcali  $N_{10}$  fino a colorazione rossa debole. Poi si aggiungono 2 o 3 cmc. di glicerina neutra, si agita e dopo che il colore rosso sia scomparso; si titola nuovamente e se si impieghino più di due gocce di alcali per far ritornare il colore rosso, vuol dire che al latte è stato aggiunto acido borico. Con questo processo si possono scoprire anche 0,2 gr. di acido borico in 1 litro.

Per la determinazione quantitativa, vedi *carne preparata*.

### Formalina.

La formalina è il più potente antisettico di quelli soprannominati ed è capace di conservare il latte inalterato per 100 ore alla temperatura di 25° C. nella proporzione di una parte in 500 parti.

La formalina è una soluzione di formaldeide nell'acqua al 43 o 44 %.

Per ricercare la formaldeide nel latte vi sono vari processi e varie reazioni tra le quali accennerò a due soltanto che possono essere applicate comodamente al latte.

A 10 cmc. di latte si aggiungono 2 o 3 cmc. di una soluzione di floroglucina, preparata, sciogliendo gr. 0,10 di questa in 100 d'acqua, e 5 o 10 gocce di una soluzione di soda caustica. Si agita ed, in presenza di formaldeide, il latte piglierà poco a poco una colorazione rosa.

Soluzioni concentrate di formaldeide danno reazione debole o nulla; la reazione più forte si ha con una concentrazione di 0,00004 per 100 (Vanino).

15 cmc. di latte si uniscono con 1 cmc. di soluzione di cloridrato di fenilidrazina 4 %, tre o quattro gocce di una soluzione recentissima di nitroprussiato di sodio 0,5 %, e con tanta soluzione di soda da alcalinizzare fortemente il liquido.

In presenza di formaldeide si ha una colorazione bluastro tendente al cinereo che resiste per 15 o 20 minuti, poi scompare e, dopo un lungo riposo, viene sostituita da una colorazione rosea.

Questa reazione è sensibile fino ad una diluizione di 1 in 30000 ed è caratteristica per la formaldeide, perchè non si ha con alcun'altra aldeide della serie grassa e della serie aromatica (Rimini Enrico).

La formaldeide nel latte altera le sostanze albuminoidi in modo che esse non si sciolgono più in una mescolanza di acido solforico e di acido acetico; la caseina non precipita più in fiocchi fini, ma in fiocchi grossi e spessi e ne è diminuita grandemente la digeribilità.

*Acqua ossigenata.* — Anche l'acqua ossigenata si usa per la conservazione del latte. Una quantità di 5 cmc. d'acqua ossigenata 30 %, è capace di conservare un litro di latte inalterato per 8 giorni, una quantità 6 o 7 % per 30 giorni (Cao). 5 o 6 cmc. di acqua ossigenata 2,35 % è capace di conservare un litro di latte almeno per 18 ore (Hewart).

Si ricerca l'acqua ossigenata nel latte immergendovi una strisciolina di carta al joduro di potassio amidato. In presenza di acqua ossigenata la cartolina si colorerà in bleu, più o meno sollecitamente, a seconda della quantità di acqua ossigenata contenuta nel latte.

## Burro.

Il burro è un derivato del latte, che ha, nell'alimentazione, una grande importanza: è un grasso molto appetito e molto facilmente digeribile.

Il burro si prepara colla panna del latte, la quale non differisce, in sostanza, dal latte che per una maggior quantità di grasso e per una minor quantità di sostanze albuminoidi.

In 46 analisi di panna la composizione ha oscillato tra i numeri seguenti:

TAB. 49

	Acqua %	Sostanze azotate ‰	Grasso %	Lattosio %	Ceneri %
Massima . . . . .	83.23	7.88	29.93	5.52	2.50
Media . . . . .	68.82	3.76	22.66	4.23	0.53
Minima . . . . .	22.83	0.63	45.19	0.59	0.11

La panna si può separare dal latte in due modi: o per affioramento, o colle scrematrici centrifughe. Per affioramento, si mette il latte in bacinelle di ferro stagnato e queste si depongono in un ambiente che abbia una temperatura di 12° C. all'incirca. Dopo 12 o, al più, 24 ore, in inverno, l'affioramento è completo e si procede alla scrematura del latte, servendosi delle pannarelle di legno o di ferro stagnato, le quali permettono di togliere al latte quasi tutta la crema e di non portare in questa una soverchia quantità di latte. Colle scrematrici centrifughe, si riscalda il latte fra 35° e 40° e si fa passare nel tamburo, girante con una velocità di 6000 a 6500 giri al minuto primo. Coteste centrifughe sono costruite in modo che, regolando l'entrata del latte, si può avere un lavoro continuo, uscendo da una parte la crema e dall'altra il latte scremato.

Il vantaggio delle scrematrici centrifughe sul vecchio sistema dell'affioramento sta precisamente in questo che si può utilizzare il latte spannato per alimentazione, pel caseificio e si può ottenere la massima quantità di crema (1).

(1) Per maggiori dettagli, vedi il *Compendio di caseificio teorico-pratico* di Besana.

### Preparazione del burro.

Il burro oggi si prepara col sistema danese, ovvero facendo acidificare la panna, prima della burrificazione, mediante il fermento selezionato di Hansen o di altro fabbricatore. La preparazione del burro comprende varie operazioni, cioè: *trapianto della cultura pura nel latte magro; inoculazione del fermento nella panna pastorizzata; trattamento meccanico, ecc.*

Il trapianto della cultura pura del latte magro si fa nel modo seguente: Si pastorizza un litro di latte centrifugato, alla temperatura di 80° C., si raffredda rapidamente a 30°, poi vi si aggiunge la decima parte del contenuto di una boccetta piena della polvere Hansen. Si mescola e si lascia in bagnomaria alla temperatura di 32°, per la durata di 18 ore, avendo cura di rimiscolarlo ogni tanto e mantenendo sempre il recipiente coperto. Dopo questo tempo, si trova una massa coagulata, molle ed acida, che è il fermento riprodotto. Questo allora si mescola alla panna dolce, che è stata riscaldata a 75°-80° per un'ora nella proporzione del 5 % e la mescolanza si mantiene per 22 ore alla temperatura di 20-22°. Dopo questo tempo, la panna che si presenta coagulata in massa compatta, si raffredda verso 15°-16° e si burrifica.

La burrificazione avviene quando la panna acidificata, messa in una zangola metallica e sbattuta fortemente con mezzo meccanico od a mano si riunisce in masse più o meno grandi, che nuotano in un liquido, al quale è stato dato il nome di latticello, e che riunite, compresse, lavate a grandi acque e foggiate in pani, costituiscono il burro del commercio.

La qualità del burro sembra in rapporto alla rapidità più o meno grande, d'ascensione della crema nel latte: cioè daranno burro migliore quei latti che si scremano più facilmente e più rapidamente sotto l'influenza della forza centrifuga.

### Composizione del burro.

Il burro, come facilmente si può capire, non è formato di solo grasso; ma di grasso e di tutti i costituenti del latte. Sicchè esso conterrà: *acqua, grasso, cascina, zucchero di latte, ceuri.*

**PRESA DEL CAMPIONE.** — Il campione di burro, per l'analisi, deve esser preso in diversi punti del pane, e, cioè, alla superficie, al centro ed al fondo, mediante una stecca d'acciaio. La quantità non deve essere mai inferiore a 100 gr.

Il campione deve essere mantenuto ed inviato in vasi accuratamente puliti di porcellana, di terra verniciata o di vetro scuro, in modo che esso sia tenuto fuori dal contatto dell'aria e della luce. La carta si deve, in ogni caso, evitare, specialmente quando si debba giudicare il burro alla stregua della sua acidità. Nel caso, si deve usare carta pergamena.

I singoli campioni devono essere muniti di tutte le indicazioni necessarie, nomi commerciali, ecc., ed inviati immediatamente a destinazione.

**DETERMINAZIONE DELL'ACQUA.** — 5 gr. di burro, presi in sottili fette in vari punti del campione, si pesano in una capsula di porcellana a fondo piano e contenente polvere di pomice arroventata antecedentemente. La capsula si mette in una stufa di Soxhlet con glicerina, riscaldata tra 100 e 105° C. e dopo mezz'ora si pesa. Si ripetono le pesate di 10 in 10 minuti fino a che tra le due ultime pesate non vi sia una differenza molto sensibile. Un riscaldamento troppo prolungato si deve evitare perchè i grassi si ossidano ed aumentano di peso.

Per la determinazione rapida dell'acqua nel burro, Weibel consiglia di operare nel modo seguente: In un cilindro di vetro, poco largo, che nella sua parte inferiore porta un rubinetto e che nella parte superiore può esser chiuso mediante un tappo, si sciogliono 10 gr. di burro in 30 cmc. di etere saturo d'acqua. In un tubo di calibro stretto e graduato si introducono poi 5 cmc. di una soluzione satura di cloruro di sodio e colorata in rosso con una goccia di tornasole acida per acido acetico e tutto il contenuto del cilindro. Si scuote dolcemente la mescolanza e si lascia in riposo per la separazione dei diversi strati. Dopo pochi minuti il liquido è perfettamente limpido e la soluzione colorata è aumentata corrispondentemente all'acqua contenuta nel burro.

La lettura si fa sulla graduazione.

Per la esattezza, il metodo sta al disotto di quello ponderale, ma serve molto bene nei controlli ufficiali.

La quantità di acqua nei burri, bene fabbricati, non va mai al di sopra del 15 %, mentre nei burri, trattati con acqua calda, può arrivare fino al 26 % ed anche più.

**DETERMINAZIONE DEL GRASSO.** — 5 gr. di burro si pesano in una capsula di porcellana, si mescolano intimamente con polvere di pomice secca e si mettono in un cilindretto di carta. Si lava la capsula più volte colla stessa

polvere ed i lavaggi si mettono pure nel cilindretto, il quale poi si chiude, si lega, si mette in un estrattore di Soxhlet e si opera nell' identico modo che si è detto per la determinazione ponderale del grasso nel latte.

DETERMINAZIONE DELLA CASEINA E DELLO ZUCCHERO DI LATTE. — Si pesano 10 gr. di burro in un filtro di carta, il burro si fa fondere in stufa e si fa filtrare. Il filtro che contiene la caseina, lo zucchero di latte e le ceneri si lava più volte con etere, per liberarlo completamente dal grasso, poi con alcool assoluto. Finalmente il residuo si tratta con acqua distillata e ciò che filtra si raccoglie in recipiente separato: lo zucchero di latte passerà nel filtrato, la caseina rimarrà sul filtro. Lo zucchero si determinerà col metodo descritto per la stessa determinazione nel latte, la caseina si determinerà col metodo di Kjeldhal, facendo passare ciò che è rimasto sul filtro in un pallone di Jena, per mezzo di una spruzzetta.

DETERMINAZIONE DELLE CENERI. — 10 gr. di burro si pesano in un filtro di cui si conoscano le ceneri e si trattano come nella determinazione precedente. Con etere ed alcool, si allontana la massima parte di grasso ed il filtro si brucia in un crogiuolo di platino pesato. Dalle ceneri trovate si detraggono quelle del filtro e la differenza moltiplicata per 10 dà le ceneri per 100 di burro.

DETERMINAZIONE DELL'ACIDITÀ. — In un tubo da saggio usuale, avente la capacità di 40 eme. circa, il diametro di 17-18 millimetri e la bocca da potersi chiudere con un buon tappo di sughero si pesano 10 gr. di burro filtrato. Poi si uniscono al grasso 15 eme. di alcool 95 % ed il tubo si immerge, per qualche minuto, in un bagno d'acqua a 15-50° C.; si estrae e si sbatte la mescolanza fortemente per mezzo minuto. Si immerge nuovamente il tubo nel bagno ed ivi si tiene fino a che l'alcool siasi nettamente separato dal grasso. Allora, con precauzione, si decanta l'alcool, facendolo cadere in un matraccio Erlenmeyer: si ripete il trattamento con 15 eme. di alcool una seconda volta ed una terza, considerando inutile un quarto trattamento, il quale asporta solo una quantità di acido piccolissima.

La titolazione della soluzione alcoolica si fa con alcali decinormale in presenza di qualche goccia di soluzione di fenolfaleina.

Il numero di eme. che si ottiene, diviso per 10 e moltiplicato per 5 dà il grado di acidità del burro, secondo Koltstorfer.

Il burro, che abbia 10 gradi di acidità, si deve dichiarare invendibile (Sendtner) quando al sapore ed all'odore dia prova manifesta di decomposizione.

Si è creduto, determinando l'acidità del burro, di determinarne la rancidità: ciò non è esatto, perchè acidità e rancidità sono due cose completamente diverse. L'acidità può esser data dalla saponificazione spontanea dei gliceridi, oppure dall'acido lattico prodotto a spese del poco lattosio che si trova nel burro: la rancidità invece è data dalla decomposizione dell'acido oleico e dalla formazione di aldeide enantifica, che ha odore e sapore caratteristico di rancido (Scala).

I componenti del burro oscillano entro i limiti seguenti (300 analisi):

TAB. 50.

	Acqua %	Grasso %	Caseina %	Lattosio %	Acido lattico %	Ceneri %
Massima. . .	35.12	86.13	4.78	1.16		15.08
Media. . . .	13.59	84.39	0.74	0.50   0.12		0.66
Mínima . . .	4.43	69.96	0.19	0.43		0.02

### Sofisticazioni del burro.

Il burro può essere sofisticato o facendogli incorporare una quantità di acqua, ed una quantità di caseina, maggiore della media normale, oppure aggiungendo sali minerali e grassi estranei.

Le prime tre sofisticazioni si possono scoprire, analizzando il burro, nel modo detto dianzi, e confrontando le cifre colle medie: la quarta offre difficoltà non piccole, e, per essa, sono necessari metodi speciali.

Il grasso, che più comunemente si usa per sofisticare il burro naturale, è l'*oleomargarina*, un derivato del grasso di bue. Per prepararla, si usa ancora il processo di Mège-Mouriés, lievemente modificato.

Si piglia, cioè, il grasso di bue, si taglia in piccoli pezzi e si porta sotto una grossa macina di granito, ove è schiacciato e lavato fino a che contenga del sangue. Poi si mette entro caldaie di rame stagnato, a doppia parete, insieme ad un po' d'acqua, resa alcalina con bicarbonato di sodio, e riscaldate col vapore d'acqua. Ivi il grasso fonde e galleggia sull'acqua: il connettivo si deposita: così si ottiene una prima depurazione del grasso, il quale, dopo un certo tempo, apparisce limpido e chiaro come olio. Allora si passa in cassette rettangolari di ferro stagnato e si lascia in riposo, per 24 ore, in una camera riscaldata tra 20° e 25°. A questa temperatura, cristallizzano i gliceridi palmitico e stearico, che hanno un punto di fusione piuttosto elevato, e rimane liquido il gliceride oleico. Per separare quest'ultimo, si mette la massa cristallizzata entro pezze di flanella e si sottopone all'azione di una pressa idraulica, nell'ambiente stesso, ove è avvenuta la cristallizzazione. Il gliceride oleico cola in un recipiente sottostante, i gliceridi solidi rimangono nelle pezze di flanella: la sostanza liquida

è propriamente l'*oleomargarina*, la materia prima, cioè, che serve alla preparazione del burro artificiale e che ha un punto di fusione oscillante tra 20°-22°.

**BURRO ARTIFICIALE.** — Il burro artificiale si prepara mettendo in una zangola 30 kg. di oleomargarina, 25 litri di latte, 25 litri di acqua 5 o 10 kg. di burro naturale e un po' di colore e sbattendo, colla forza meccanica, la massa come se si trattasse di burrificare la crema del latte. Quando la mescolanza è resa omogenea, si fa consolidare, si lava in acqua fredda prolungatamente, per eliminare il latte in eccesso, si affina facendola passare attraverso cilindri di granito e finalmente si foggia in pani portanti la scritta: *burro margarina*.

Il burro artificiale simula molto bene i caratteri del burro naturale e ne simula anche la composizione immediata, poichè contiene tutte le sostanze che si trovano nel burro naturale ed in quantità quasi eguale. Una differenza esiste unicamente nella sostanza grassa. Poichè il burro naturale contiene una quantità considerevole di gliceridi ad acidi volatili, il burro artificiale invece ne contiene una piccola quantità.

Le analisi da A. Molt, rappresentate nella tabella 51, ce ne danno la dimostrazione.

TAB. 51.

Componenti	Burro naturale	Burro artificiale
Acqua . . . . .	11.83	12.01
Palmitina . . . . .	16.83	18.31
Stearina . . . . .	25.39	38.50
Oleina . . . . .	22.93	24.95
<b>Butirrina, caprina, caprina, ecc</b> . . . . .	<b>7.61</b>	<b>0.26</b>
Caseina . . . . .	0.18	0.74
Sali . . . . .	5.22	5.22

I metodi capaci di far distinguere il burro naturale, dal burro artificiale e dalle mescolanze si possono classificare in due gruppi: in metodi, cioè, fondati sulle proprietà fisiche ed in metodi fondati sulle proprietà chimiche.



### Metodi fisici.

*Processo di Dronot.* — Tra i metodi fisici il processo di Dronot è il più semplice e spiccio e può dare indicazioni anche buone.

Si prende un pezzetto di burro, si mette in una capsulina di porcellana od in un tubo da saggio, si fa fondere in bagnomaria a 50° e si osserva se fonda opaco o chiaro. Se fonda opaco, si può credere che il burro sia completamente artificiale o mescolato, se fonda chiaro, si può credere che sia naturale.

Cotesto processo fu sperimentato nell'Ufficio Imperiale di Sanità di Berlino su 200 campioni di burro, sicuramente naturali e su molte margarine e si ebbe per risultato che i primi fusero tutti chiari e le seconde fusero opache.

Anche Hehner esaminò 370 campioni di burro, alcuni naturali, altri mescolati, col processo di Dronot e trovò che di 223 burri naturali, fusero chiari 162 e opachi 61; che di 147 burri mescolati, fusero chiari 66 ed opachi 81.

Su questo processo quindi non si può fondare il giudizio della purezza o meno del burro, e se nella maggioranza dei casi, permette di conoscere le sofisticazioni con margarina, non permette di conoscere le sofisticazioni con burro di cocco, olio di cotone, ecc. (Wietinghoff-Scheel).

**ESAME AL MICROSCOPIO POLARIZZATORE.** — Per osservare il burro al microscopio polarizzatore, si incomincia a disporre l'analizzatore in modo che i nicol del polarizzatore e dell'analizzatore siano incrociati; la qual cosa si ottiene quando nel microscopio si abbia campo oscuro. Si mette sul tavolino del microscopio una lamina sottilissima di selenite e si gira in modo da avere una colorazione rosa, che è la colorazione più adatta per la osservazione dei burri.

Si piglia un pochino di burro, si spalma sopra un portaoggetti e si comprime leggermente con un coprioggetti. Il preparato si mette sopra la lamina di selenite e si osserva al microscopio, provvisto di un obiettivo a secco n. 7 e di un oculare n. 2.

Il burro fresco-genuino dà un campo uniformemente colorato, cosparso di finissime granulazioni, pure egualmente colorate: mentre il burro artificiale presenta un campo interamente frastagliato ed a colori molto varii: giallo, verde ed azzurro.

Se si mescolino il burro naturale ed il burro artificiale e si osservi al microscopio la mescolanza, si vedranno, in un campo uniforme dei punti variamente colorati tanto più numerosi, quanto maggiore sarà la quantità di burro artificiale aggiunto al burro naturale.

Questi effetti sono dovuti alla struttura cristallina del burro artificiale passato attraverso a tante fusioni e tanti raffreddamenti, ed alla struttura completamente amorfa del burro naturale.

Ma quando, per una causa qualunque, il burro naturale arrivi a cristallizzare, dà al microscopio polarizzatore gli stessi effetti del burro margarinato.

E le cause che possono far cristallizzare il burro naturale sono: irrancidimento e fusione.

Quindi, le indicazioni affermative del microscopio polarizzatore avranno valore, quando si possa escludere che il burro in esame sia vecchio, sia stato fuso e sia stato salato o sofisticato con altre sostanze minerali cristalline.

ESAME AL REFRAATTOMETRO DI ZEISS. (Fig. 256). — Per tale esame si mette il burro fuso e filtrato nel prisma, munito di apparecchio di riscaldamento.

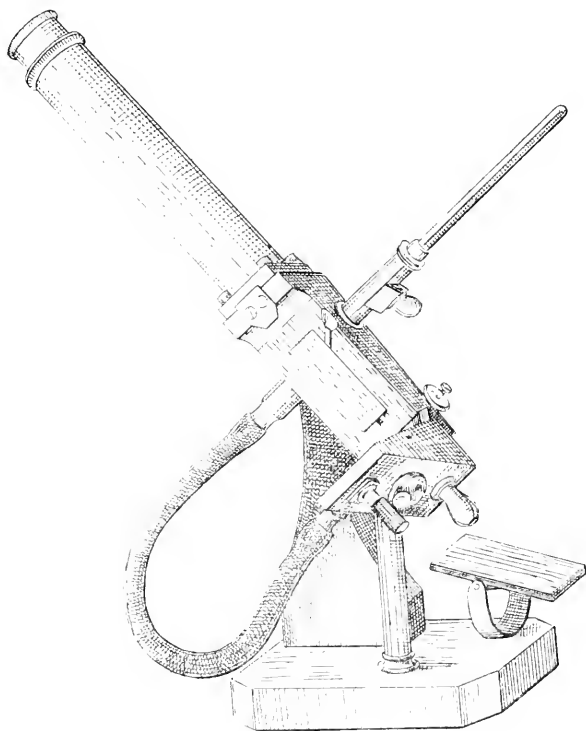


fig. 256.

Per mezzo di acqua, si riscalda il prisma a 35° C. in modo da esser sicuri che il burro nell'interno del prisma abbia preso la detta temperatura, e si osserva la deviazione.

Dall'esame di 108 campioni di burro del lodigiano, eseguito da Besana, è risultato che l'indice medio è di 46; gli estremi sono: 44,8 e 47.

Dall'esame di grassi, estranei al burro, si sono avuti i risultati seguenti:

Margarina commerciale . . . . .	50-51
Grasso di cocco . . . . .	38,2
Olio di oliva . . . . .	57
Olio di sesamo . . . . .	62

La temperatura ha una grandissima influenza sui dati refrattometrici e Mansfeld ha trovato che ogni aumento di un grado, fa abbassare le indicazioni del refrattometro di 0,53 per il burro; 0,52 per la margarina; 0,55; 0,85; 0,88 per gli olii di cotone, oliva e sesamo; 0,57 per il grasso di maiale.

Besana ha trovato che nei limiti di temperatura tra 30° e 40° la diminuzione dell'indice di rifrazione per 1 grado e pel burro è di 0,54, per la margarina, di 0,56.

Il burro-refrattometro di Zeiss dà indicazioni abbastanza nette e precise, quando si tratti di decidere tra un burro naturale ed un burro completamente artificiale; ma quando si tratti di decidere se ad un burro naturale sia stata aggiunta oleomargarina od altri grassi estranei, le sue indicazioni diventano incerte e qualche volta fallaci. Per es., Wollny e Mansfeld ammettono che tutti i burri, che, alla temp. di 40°, danno un indice inferiore a 44, devono essere considerati come puri, eppure Julien-Delaite ed altri hanno trovato burri anormali, dubbii ed anche falsificati che danno cifre inferiori di molto a 44. Inoltre, quando si aggiunga al burro naturale, burro di cocco ed olio di palma, che hanno un indice più basso di quello del burro di vacca, le indicazioni del refrattometro sono completamente fallaci. E saranno fallaci anche quando alla margarina si aggiunga burro di cocco ed olio di palma in quantità tale da far discendere l'indice di rifrazione entro i limiti del burro naturale.

Contuttociò, si potrà ritenere sofisticato un burro che dia un indice superiore a 48 divisioni della scala del refrattometro Zeiss a 35° C.

DETERMINAZIONE DELLA DENSITÀ A 100° C. — Per questa determinazione, si adopera un recipiente di lamiera, che funziona da bagnomaria, chiuso superiormente con un coperchio a due fori, per i quali passano due grosse provette di cristallo, destinate a contenere il burro. Queste provette sono sostenute da due staffe, affidate al coperchio, le quali non permettono loro di affondarsi nell'acqua.

Per determinare la densità, si filtra il burro, per liberarlo da tutte le sostanze estranee e dall'acqua e si introduce nei tubi, i quali si mettono nel bagno di lamiera contenente nel fondo una certa quantità d'acqua. Si riscalda con lampada a spirito fino a tanto che il burro abbia presa la temperatura dei vapori dell'acqua bollente, la qual cosa avviene dopo una quindicina di minuti, e si immergono nel burro i densimetri. Si legge il numero che corrisponde al punto d'affioramento del liquido e quello indicherà la densità del burro a 100°.

Il burro naturale deve avere una densità non inferiore a 0,865: i burri che hanno densità inferiori si devono ritenere sofisticati con grassi estranei.

Esperienze fatte sui burri della Garfagnana (Martelli) e dell'Emilia (Spallanzani e Pizzi) hanno dato una densità minima di 0,864.

### Metodi chimici.

DETERMINAZIONE DEGLI ACIDI VOLATILI COL METODO REICHERT-MEISSL WOLLNY. — In un matraccio Erlenmeyer, della capacità di 300 o 350 cme., perfettamente secco, si pesano 5 gr. di burro filtrato, e si uniscono con 10 cme. di una soluzione di potassa alcoolica, ottenuta sciogliendo 170 gr. di potassa in un litro di alcool a 96 °. Si chiude il matraccio con un tappuccio di gomma, traversato da un tubo di vetro affilato e ripiegato in basso, si riscalda in bagno d'acqua bollente ed ivi si tiene fino a tanto che l'alcool si sia evaporato completamente, aiutando talvolta l'evaporazione, soffiando aria nell'interno del matraccio. Si aggiungono poi 100 cme. di acqua distillata, recentemente bollita, si fa sciogliere il sapone (1), si fa raffreddare completamente e si aggiungono ancora 40 cme. di una soluzione di acido solforico, 25 per mille e due o tre pezzettini di pomice. Si congiunge rapidamente il matraccio con un tubo verticale a tre bolle e con un refrigerante di Liebig che abbia una lunghezza non inferiore a 60 cm. Si riscalda il matraccio, posto su di una rete metallica, con fiamma diretta, si distilla ed il distillato si raccoglie in un imbuto, munito di filtro di carta, e posato sopra una boccetta tarata. Si raccolgono 110 cme. di distillato, i quali si versano poi in un bicchiere e si titolano per conoscere la loro acidità. Ciò si fa, aggiungendo al liquido alcune gocce di soluzione di fenolftaleina 2 %, come indicatore, e tanta potassa  $N_{10}$  da produrre una colorazione rossa permanente nel liquido.

La saponificazione del burro, invece che colla potassa alcoolica, si può fare colla glicerina solata. 5 gr. di burro chiaro e filtrato si pesano in un matraccio della capacità di 350 cme. circa, si uniscono con 20 gr. di glicerina, della densità 1,26, e con 2 cme. di soda caustica, ottenuta sciogliendo 100 gr. di soda in 100 cme. di acqua distillata. Si riscalda la mescolanza a fiamma diretta, agitando continuamente, fino a che si sia evaporata tutta l'acqua (ciò che avviene dopo 5 od 8 minuti), e fino a che la mescolanza appaia perfettamente chiara. Si riscalda ancora per breve tempo, facendo ondulare il matraccio in vari sensi, si fa raffreddare il sapone ad 80' o 90' e si scioglie con 90 cme. di acqua calda ad 80' o 90'. Nella maggior parte dei casi si ha una soluzione limpida immediatamente, la quale si unisce con 50 cme. di una soluzione di acido solforico 25 ‰ e si sottopone alla distillazione, come è stato detto di sopra.

Dal numero di cme., impiegati per produrre la neutralizzazione, detratta la prova in bianco (2), si formula il giudizio sulla genuinità o meno del burro, ritenendo, cioè, *genuini* quei burri che

(1) Se la soluzione del sapone non sia limpida si può sospettare che la saponificazione del grasso sia avvenuta incompletamente.

(2) La prova in bianco è rappresentata dal n. di cme. di potassa  $N_{10}$  corrispondente agli acidi volatili che si hanno eseguendo una prova nel modo detto di sopra, senza il burro, oppure sostituendo a questo 5 gr. di paraffina.

contengono, in 5 gr. di grasso, una quantità di acidi volatili, corrispondenti a 26 cme. di potassa  $N_{10}$  o ad una cifra superiore; *sospetti*, se contengano una quantità di acidi volatili, compresi tra 20 e 26 cme.; *sofisticati*, se contengano una quantità di acidi volatili al disotto di 20 cme.

I tre limiti sopra notati sono stati stabiliti sulle esperienze conosciute fino ad ora. E, difatti, la quantità di acidi volatili nel burro non è costante ma variabile, a seconda della razza della vacca da cui proviene; dell'altitudine del luogo, ove si trovano le vacche; del periodo della lattazione (Spallanzani); della stagione (in autunno si hanno i numeri più bassi); del modo di preparazione del burro; del modo di conservazione, ecc. Onde, non era possibile stabilire un limite unico al disotto del quale il burro si dovesse ritenere sofisticato, perchè si poteva incorrere nel pericolo di far passare come genuini dei burri sofisticati con piccole quantità di grassi estranei. Si è creata perciò la classe dei sospetti, nei quali entrano tutti quelli che contengono una quantità di acidi volatili che si può riscontrare nei burri genuini, ma che può anche essersi abbassata per la mescolanza di grassi estranei. Quindi, la quantità di acidi volatili od il numero Reichert-Wollny, come si dice più brevemente, ci dà il mezzo di orientarci facilmente e sicuramente sulla genuinità o meno del burro: prudenza vuole però che, dopo la determinazione di questo dato interessante, non si trascuri l'esame del burro coi mezzi fisici sopra descritti, perchè solo dal responso concordante di tutti i metodi si potrà concludere se un burro sia stato o non sofisticato con grassi estranei.

OLIO DI SESAMO. — Per ricercare l'olio di sesamo nella margarina e nel burro, si opera nel modo seguente: 20 o 30 gr. di burro si fanno fondere in un tubo da saggio, ad una temperatura tra 50° ed 80° e quando l'acqua si è deposta nel fondo del tubo, si versa il grasso soprastante su di un filtro secco e si raccoglie il filtrato in un tubo pulito e secco. 10 cme. del grasso limpido si mettono in un piccolo agitatore cilindrico, si uniscono con 10 cme. di acido cloridrico del peso specifico 1,125 e si dibatte per mezzo minuto circa. Se la soluzione di acido cloridrico, dopo separazione, non sia colorata in rosso, è segno che il burro non è stato colorato con materie coloranti capaci di passare al rosso con semplice acido cloridrico e capaci perciò di mascherare la reazione dell'olio di sesamo. Si getta il liquido acido, aprendo la chavetta, il grasso si fa passare in un piccolo cilindro graduato, si aggiunge 0,1 cme. di soluzione alcoolica di furfurolo 1 %, 10 cme. di acido cloridrico del peso spec. 1,19, si agita fortemente per mezzo minuto e si lascia in riposo per qualche tempo. In presenza di olio di sesamo, lo strato acido si colora intensamente in rosso.

Nel caso che il burro o la margarina siano stati colorati con materie coloranti che passano al rosso con acido cloridrico, si devono lavare con acido cloridrico, della densità detta di sopra, fino a che questo apparisca scolorato. Sul grasso, così lavato, si fa la reazione per l'olio di sesamo.

Ripetute esperienze di alimentazione di vacche con panelli di sesamo e di cotone hanno dimostrato che nel grasso del latte non passa la sostanza che dà la reazione nell'olio di sesamo, passa invece quella che dà la reazione nell'olio di cotone.

**BURRO DI COCCO.** — Per ricercare il burro di cocco nel burro di vacca, Vaudam approfitta della diversa solubilità degli acidi grassi nell'alcool 60 %.

Si pesano 5 gr. di burro in un matraccio della capacità di poco superiore a 150 cmc. e che porti nel collo un segno che indichi il volume di 100 cmc., si aggiungono 25 cmc. di potassa alcoolica 8 % e si riscalda fino all'ebollizione. Si aggiungono poi 50 cmc. di alcool della densità 0,832 o 90,58 % e, dopo raffreddamento a 15° C., tanta acqua fino al volume di 100.

La soluzione alcoolica di sapone si tratta con 25 cmc. di acido solforico, preparato in modo da neutralizzare esattamente i 25 cmc. di potassa. L'emulsione si lascia raffreddare lentamente a 15° C. e si mantiene a questa temperatura per un certo tempo. Si filtra ed una parte aliquota si titola, servendo da indicatore la fenolfaleina, con potassa  $N/2$ .

Il volume degli acidi insolubili, che si separano, come pure il volume del solfato di potassio che cristallizza, devono essere sottratti dal volume di 100.

Il volume del solfato di potassio raggiunge 1,7 cmc.; quello degli acidi grassi insolubili, si determina, raccogliendo esattamente gli acidi grassi, fusi in acqua, e fatti nuovamente consolidare per raffreddamento, sciogliendoli in 10 cmc. di alcool e notando l'aumento di volume.

La parte aliquota, presa nella determinazione dell'acidità, sarà corretta in base al volume totale.

Nell'alcool a 60° si sciolgono le seguenti quantità di acidi grassi, calcolati in 5 gr. di burro ed in cmc. di potassa  $N/2$ .

Barro di cocco . . .	44,2
» di vacca . . .	10,9
» margarina . . .	3,6

## Formaggio.

Il formaggio è anch'esso un derivato del latte, noto dai tempi più remoti. Si prepara tanto col latte intero, quanto col latte spannato, separando la caseina colla diastasi presamica o colla diastasi contenuta nel fiore del cardo.

Per far ciò, il latte si riscalda in apposita caldaia, alla temperatura di 35° a 40° C., si mescola colla quantità opportuna di soluzione di presame e si lascia in riposo, per qualche tempo, per farlo coagulare. Ciò si avverte, toccando col polpastrello del dito la superficie libera del latte, la quale offrirà, se coagulato, una certa resistenza alla pressione o si fenderà, lasciando asciutto il dito. Allora, per mezzo di uno strumento di legno, si taglia la cagliata in tutti i sensi, poi si sminuzza sottilmente collo *spino*, che è una specie di bastone, munito nel fondo di pinoli laterali. Si mette a fuoco la caldaia e si fa cuocere la cagliata, a seconda che si voglia fare formaggio molle da mangiare o formaggio duro da condire, tra 40° e 45°, o tra 60° e 70°. La riunione dei pezzi di cagliata, natanti nel siero, si fa introducendo le mani entro il liquido e raccogliendoli con paziente lavoro in un pastone unico, il quale poi, ancora caldo, si stringe entro cerchi di legno e si comprime colle mani o con uno strettoio per farne uscire la massima parte del siero imprigionato.

Il formaggio, in questo stato, non ha sapore nè odore speciale: è semplicemente latte rappreso. Affinchè diventi vero formaggio è necessario che esso maturi, si stagioni e si trasformi più o meno profondamente, i suoi costituenti. Perciò, appena la forma esce dallo strettoio, si porta in un ambiente, detto *casara*, esposto a settentrione e con una temperatura media di 15°; ivi si sala e si lascia fino a che sia finito il processo di maturazione, sorvegliato e curato da appositi ed esperti operai.

La maturazione o la stagionatura dei formaggi avviene per azione di alcuni microrganismi, i quali attaccano lentamente tutte le parti della massa caseosa e producono gas ed altre sostanze talvolta con odore e sapore speciale, talvolta insipide ed inodore. Così la sostanza albuminoide, in parte si modifica soltanto, in parte si decompone profondamente fino ad arrivare all'acido carbonico, agli acidi ammidati ed all'ammoniaca: lo zucchero di latte scompare e dà acido lattico ed, in piccola quantità, acido carbonico ed alcool; il grasso si saponifica lentamente e dà acidi liberi, fissi e volatili, i quali traversano la massa caseosa e si spandono nell'atmosfera. Gli effetti appariscenti della maturazione sono: il cambiamento di colorito della massa caseosa, che da bianca opaca diventa traslucida e da dura e compatta diviene molle e pastosa e poi nuovamente dura, a maturazione completa, nei formaggi da condire; l'acquisto di un odore acuto e speciale e di un sapore gustoso e piccante e la formazione di occhi, più o meno grandi, in tutta la massa. I cambiamenti chimici si possono vedere nelle analisi di Musso e Menozzi riportate nella tabella 52.

TAB. 52

Qualità	Acqua % <sub>100</sub>	Caseina % <sub>100</sub>	Albumina % <sub>100</sub>	Peptone % <sub>100</sub>	Amidi % <sub>100</sub>	Ammoniaca % <sub>100</sub>	Grasso % <sub>100</sub>	Ceneri % <sub>100</sub>
Stracchino fresco . . . .	55.02	14.26	4.23	0.79	4.54	0.05	24.51	2.34
Stracchino maturo . . . .	40.37	14.93	0.71	0.86	8.45	0.12	30.83	3.75
Emmenthaler maturo . . . .	37.59	20.38	0.63	0.75	4.20	0.11	31.47	4.15

ed in quelle di Brassier, riportate nella tabella 53, che fece maturare 5 pezzi di formaggio, del peso di 300 gr. ciascuno, salati e non salati e li esaminò dopo tempi diversi.

TAB. 53.

	Formaggio fresco	Formaggio non salato		Formaggio salato		
		dopo 2 mesi	dopo 4 mesi	dopo 2 mesi	dopo 4 mesi	dopo 7 mesi
Caseina . . . . .	96.21	83.40	85.01	78.60	80.40	67.06
Zucchero di latte . . . . .	11.46	—	—	—	—	—
Sostanze azotate solubili in alcool.	—	21.48	18.67	15.75	18.28	33.42
Grasso . . . . .	66.78	56.34	46.92	56.01	40.50	33.74
Ceneri insolubili . . . . .	2.25	2.25	2.25	—	—	—
Ammoniaca . . . . .	—	—	—	15.53	16.75	16.50
Acqua e sostanze volatili . . . . .	traccie	4.85	4.95	4.42	4.67	3.22
	123.0	67.31	59.20	68.69	81.70	56.06
Totale . . . . .	300.0	232.0	214.0	236.0	239.0	216.0
Azoto totale . . . . .	15.27	15.94	12.32	13.73	14.63	10.58

PRELEVAMENTO DEL CAMPIONE. — Il campione deve rappresentare la media del formaggio che si deve esaminare. Nelle pizze di grandi dimensioni, si taglia, con apposito strumento, un pezzo cilindrico perpendicolarmente alla superficie; nei formaggi a palla, una fetta semicircolare; nelle pizze di piccole dimensioni non si fanno tagli, esse si prelevano intere.

Il campione deve avere il peso di 300 gr. almeno; e deve essere inviato a destinazione in vasi puliti, di vetro, di porcellana o di terra verniciata da potersi chiudere. In mancanza di cotesti vasi, potrà essere usata la carta pergamena.

#### Analisi.

Il formaggio, prima di servire alle varie determinazioni, deve essere sminuzzato finamente, se molle; grattugiato, se duro: poi deve essere mantenuto in vaso smerigliato a tenuta perfetta, affinchè non si evapori affatto l'acqua che esso contiene ed affinchè le varie prese non differiscano tra loro per composizione, quando siano fatte a distanza di tempo diversa.

DETERMINAZIONE DELL'ACQUA. — Si pesano 5 gr. di formaggio in un crogiuolo di platino, provvisto di coperchio, e si fanno seccare in stufa alla temperatura di 100° fino a costanza di peso. La differenza di peso, ovvero la perdita subita per il riscaldamento, moltiplicata per 20 dà la quantità di acqua e di sostanze volatili contenute in 100 di formaggio.



**DETERMINAZIONE DELLE CENERI.** — Il formaggio che ha servito nella determinazione precedente, si brucia, portando il crogiuolo sopra una fiamma a gas, tenuta piuttosto bassa, fino a che le ceneri siano bianche. Si ripesa e la differenza, moltiplicata per 20, dà la quantità di ceneri in 100 di formaggio.

**DETERMINAZIONE DEL CLORURO DI SODIO.** — Le ceneri, ottenute nella determinazione precedente, si sciolgono in acqua calda, si filtra la soluzione per carta, priva di cloro, ed il filtrato si fa cadere in un matraccio Erlenmeyer, nettato con acqua distillata. Si lava più volte il crogiuolo ed il filtro e nel liquido si determina il cloro col metodo Volhard indicato per l'acqua potabile. 1 cmc. di soluzione  $N/10$  di argento corrisponde a gr 0,00585 di cloruro di sodio. La quantità trovata di cloruro di sodio, si moltiplica per 20 e si ha così la quantità in 100 di formaggio.

### COMPOSIZIONE MEDIA DI ALCUNI TIPI DI FORMAGGIO.

Tab. 54.

Qualità	Acqua %	Sostanze azotate %	Grasso %	Zucchero di latte %	Ceneri %	Sulla sostanza secca		
						Sostanze azotate %	Grasso %	Azoto %
<b>Formaggi di panna.</b>								
Stracchino (8 analisi) . . . . .	39.21	23.92	33.67	—	3.80	38.73	55.12	6.49
<b>Formaggi grassi.</b>								
Gorgonzola (5 analisi) . . . . .	37.72	35.91	32.14	0.23	4.00	41.59	51.60	6.65
<b>Formaggi semigrassi.</b>								
Grana (2 analisi) . . . . .	31.33	35.34	23.90	4.17	5.25	51.47	34.75	8.22
<b>Formaggi magri.</b>								
Parmigiano (11 analisi) . . . . .	31.80	41.19	19.52	1.18	9.31	60.39	28.68	9.66
<b>Formaggi di pecora.</b>								
Pecorino romano . . . . .	29.28	34.56	33.46	—	3.94	44.62	43.13	7.14

**DETERMINAZIONE DELLE SOSTANZE AZOTATE.** — Si pesa 1 gr. di formaggio esattamente e si tratta come si è detto per la determinazione delle sostanze azotate nel latte. L'azoto trovato si moltiplica per 6.37 e si ha la

sostanza azotata contenuta in 1 gr. di formaggio. Per riferirla a 100 si risolve una proporzione semplicissima.

**DETERMINAZIONE DEL GRASSO.** — Si pesano 5 gr. di formaggio, si stemperano con sabbia fina in un mortaio e la mescolanza si introduce in un cilindretto di carta da filtro sgrassata, insieme ai lavaggi del mortaio. Il cilindretto si estrae con etere di petrolio nell'estrattore Soxhlet per 48 ore e per il resto si opera come si è detto nel latte.

**DETERMINAZIONE DELL'ACIDITÀ.** — 10 gr. di formaggio grattugiato o finamente tritato si trattano più volte a caldo con acqua distillata, si filtra ogni volta e finalmente si allunga a 200 cmc.

In 100 cmc. del liquido si determina l'acidità colla potassa  $N_{10}$ , servendo da indicatore la fenoltaleina. L'acidità si calcola in acido lattico, sapendo che ad 1 cmc. di alcali  $N_{10}$  corrispondono gr. 0,009 di acido lattico.

### Sofisticazioni.

I formaggi possono essere sofisticati con *patate*, con *sostanze minerali* e con *grassi estranei*.

#### Patate.

L'aggiunta di patate al formaggio si fa per aumentare il volume della massa caseosa ed il guadagno. Cotesta sofisticazione si scopre facilmente, tritando un pezzetto di formaggio, insieme ad un po' d'acqua, in un mortaio, e riducendolo una fine poltiglia. Una porzione della quale poi si mette in un tubo da saggio e si tratta con qualche goccia di tintura di jodio. Nel caso che vi siano patate si colorirà la poltiglia in bianco grigio o bleu a seconda della quantità. In tutti i modi, si farà una osservazione microscopica, come sarà indicato in altra parte.

#### Sostanze minerali.

Le sostanze minerali che si aggiungono al formaggio, per lo scopo anzidetto, sono: *gesso*, *spato pesante*, *creta*, ecc. Per scoprire cotesta sofisticazione, si determinano le ceneri, le quali saranno molto superiori nei formaggi sofisticati che in quelli naturali, dei quali le medie si trovano nella tabella precedente.

#### Grassi estranei.

I formaggi preparati col latte spannato presentano generalmente una pasta secca, dura, e le forme facilmente si screpolano.

In tutti i paesi lattiferi si è cercato di utilizzare il latte spannato nella fabbricazione dei formaggi, sostituendo il grasso naturale, coll'oleo-margarina o collo strutto di maiale, emulsionati prima con macchine speciali, in

modo da ridurli dell'aspetto della panna del latte. Mescolando questa emulsione col latte spannato, coagulando il latte e trattando la cagliata nel modo detto, si ottengono dei formaggi che sono stati chiamati *artificiali* e che per bontà e per serbevolezza sono molto vicini a quelli naturali.

In Italia i formaggi imitati sono: il grana, il caciocavallo ed il Bra, tutti di un esteso consumo.

La loro composizione grezza non differisce da quella dei formaggi naturali, soltanto il grasso non contiene gliceridi ad acidi volatili e non ha il sapore del grasso naturale.

Per scoprire l'aggiunta di grassi estranei, si separa prima il grasso dal formaggio col metodo di Henzold, cioè: si mettono 300 gr. di formaggio sminuzzato in una bottiglia a collo largo, si uniscono con 700 cme. di una soluzione di potassa caustica 5 %, riscaldata a 22° C., e si sbatte fortemente. Dopo 5 o 10 minuti, la massa caseosa è disciolta ed il grasso galleggia alla superficie del liquido in forma di grumi, che, mediante piccoli movimenti della bottiglia, si fanno riunire in grumi più grossi. A questo punto, si aggiunge tanta acqua fredda da portare il grasso nel collo della bottiglia ed estrarlo mediante un cucchiaino od una spatola. Il grasso si lava più volte con acqua fredda, per eliminare la potassa, si riunisce in una massa, si comprime, si fonde e si filtra a caldo. Di questo grasso filtrato si prendono 5 gr. e si determinano gli acidi volatili, come è stato detto pel burro.

Si riterrà margarinato un formaggio quando il grasso contenga una quantità di acidi volati inferiori a 20 cme. di potassa  $N_{10}$ .

Nel caso che la estrazione del grasso si faccia con etere o con acidi minerali ed in esso perciò arrivino, oltre i gliceridi, anche gli acidi grassi liberi, privi di acidi volatili, la regola imposta di sopra, per il giudizio della margaratura, è erronea; perchè i formaggi stravecchi genuini, e specialmente i pecorini, possono dare un grasso, di cui gli acidi volatili corrispondono talvolta ad una quantità di potassa  $N_{10}$  molto inferiore a 20 cme.

### Materie coloranti gialle.

Le materie coloranti che si aggiungono ai formaggi per dar loro un colorito vivo, sono il *Dimetilamidobenzolo* e l'*Orleans*, sciolti nell'olio. Si ricercano nel modo seguente:

**DIMETILAMIDOBENZOLO.** — Si estrae il grasso dal formaggio con etere di petrolio, nella quantità di circa 10 gr., che si lasciano in soluzione in 50 cme. dello stesso solvente: si aggiungono 40 cme. di una soluzione alcoolica di potassa 8 % e si lascia la mescolanza in riposo per 12 ore. Dopo questo tempo, si riscalda in bagnomaria per scacciare tutto l'etere e l'alcool, si scioglie il residuo nell'acqua, si acidifica la soluzione con acido cloridrico, fino all'inizio della separazione degli acidi grassi e si ripristina l'alcalinità con carbonato di soda. Questa soluzione si estrae con etere di petrolio, il quale scioglierà il dimetilbenzolo e si colorerà in rosso. Per constatare se il colore disciolto

sia dimetilbenzolo, si fa evaporare l'etere ed il residuo dovrà esser solubile nell'alcool e la soluzione alcoolica dovrà colorarsi in rosso con acido cloridrico (Grünhut).

ORLEANS. — Per ricercare l'orleans, si porta all'ebollizione la soluzione di sapone, preparata nel modo detto di sopra, e vi si immerge del cotone sgrassato: è una caratteristica dell'orleans di colorare il cotone in bagno saponoso. La colorazione non è molto solida, per cui il cotone non deve essere molto lavato e si deve seccare rapidamente. Il cotone colorato, trattato con acido solforico concentrato, passa al bleu.

I metodi di ricerca delle m. coloranti valgono anche per il burro.

## ALIMENTI DI ORIGINE VEGETALE.

### Cereali.

#### Frumento.

Tra i semi di vegetali, utilizzati per l'alimentazione umana, il frumento è il più importante, poichè offre un alimento sano e perfetto.

Tutte le varietà di frumento, che si utilizzano nell'agricoltura, si possono raccogliere in due grandi classi: *teneri* e *duri*, cioè, in quelle varietà nelle quali il chicco si rompe facilmente ed ha una mandorla farinosa bianca e friabile, ed in quelle varietà nelle quali il chicco si rompe un po' più difficilmente ed ha una mandorla farinosa poco friabile ed in gran parte traslucida.

Le varietà di frumento tenero servono per la preparazione delle farine e del pane, le varietà di frumento duro servono per la preparazione dei semolini e delle paste da minestra.

COMPOSIZIONE DEL SEME. — Il seme del frumento che anatomicamente si può dividere in: *embrione*, *albume* o *endosperma* e *corteccia*, è costituito di un insieme di sostanze che hanno proprietà chimiche e fisiologiche diverse. Un'analisi qualitativa dimostra che esso è composto di: *acqua*, di *sostanze azotate*, di *amido*, di *zucchero*, di *destrina*, di *cellulosa*, di *pentosani*, di *grasso* e di *sostanze minerali* (1). I grani duri contengono almeno 2,5 % d'albume più dei teneri ed una quantità di glutine molto superiore.

(1) Tutti gli altri cereali: segale, orzo, avena, riso, granturco, ecc., possiedono la stessa composizione qualitativa del frumento. Le differenze stanno nella quantità dei componenti ed in alcune particolarità che saranno notate per ogni cereale.

SOSTANZE AZOTATE. — Le sostanze azotate sono distribuite in tutto l'albumo e nell'embrione. Si trovano cioè nelle grandi cellule amidifere, come massa granulosa: nelle pareti di coteste cellule, compenstrate nella cellulosa e nella porzione periferica dell'albumo, racchiuse in cellule rettangolari molto grandi, con pareti molto spesse e molto euticolarizzate, in forma di piccoli grani immersi in una massa protoplasmatica, nella quale si può distinguere anche il nucleo.

Verso la periferia dell'albumo, siccome i granuli d'amido nelle cellule sono più piccoli e più rari, la quantità di sostanze azotate aumenta e ciò giustifica l'opinione dei pratici che attribuiscono una superiorità molto più grande alle specie di frumento con seme allungato che a quelle con seme rotondo, poichè queste ultime presentano, a parità di volume, una superficie minore. Ma a questo fatto non si deve dare una soverchia importanza, perchè la zona periferica dell'albumo, contenente i granuli d'amido più piccoli e, per conseguenza, più sostanze azotate, è molto esigua ( $\frac{1}{3}$  di millimetro) rispetto alla massa intera dell'albumo (3 mm. a 6 mm.), e perciò la differenza è trascurabile.

I proteidi del frumento, ai quali si dà il nome di *glutine* per le proprietà appiccaticcie che acquistano quando siano arrivati ad un certo grado di idratazione, sono una mescolanza di sostanze azotate, mal definite, distinguibili solo per la diversità di alcune loro proprietà. O' Brien ha trovato che nella farina di frumento vi sono due globuline, che possono essere isolate dall'estratto acquoso, per il riscaldamento. Una è la miosina che coagula a 55°, l'altra la vitellina che coagula tra 80° e 100°. All'insieme di queste due sostanze è stato dato il nome di albumina vegetale. Inoltre, ha trovato, estraendo la farina, con alcoool, un albuminato, al quale sembra doversi riferire la formazione del glutine, per idratazione e non per fermentazione, come molti hanno asserito.

Il glutine, spossato con alcoool, lascia indisciolta una sostanza, che Dumas chiamò *fibrina vegetale*, e che Ritthausen ha chiamato, più recentemente, *glutine-caseina*, sostanza che contiene 17,3 % di azoto, come la fibrina. Nella parte, solubile nell'alcoool, Ritthausen ha distinto tre sostanze azotate diverse: la *glutine-fibrina* (70 % circa), insolubile nell'acqua, la *gliadina*, specie di gelatina vegetale, poco solubile nell'acqua e la *mucedina*, un po' più solubile nell'acqua e contenente 16,63 % di azoto. È preferibile, per semplicità, di distinguere nel glutine due sostanze soltanto:

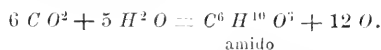
la *glutine-caseina* (1) o *glutenina*, polvere bianca giallastra, insolubile nell'alcool a 70 %<sub>0</sub>, conservante lo stato polverulento nella acqua; la *glutine-fibrina* o *gliadina*, polvere un po' più gialla, solubile nell'alcool a 70 %<sub>0</sub>, agglutinativa che si rapprende in massa, come la colla e che si comporta coll'acqua come la gelatina (Fleurent).

Il fatto che a noi interessa soprattutto di notare è questo: che il glutine estratto dalle diverse regioni del seme ha una composizione molto diversa.

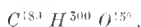
È più elastico, più bianco e più tenace quello estratto dalle parti centrali, è meno elastico, più scuro e molto meno tenace quello estratto dalle parti periferiche. Questo contiene più glutenina e meno gliadina e quello più gliadina e meno glutenina. Per avere un pane ben levato e facilmente digeribile, il glutine deve contenere 25 %<sub>0</sub> di glutenina e 75 %<sub>0</sub> di gliadina.

### Amido.

L'amido si forma nelle piante, contenenti clorofilla, per trasformazione dell'acido carbonico dell'aria, e per trasformazione dell'acqua. La reazione si può rappresentare nel modo seguente:



Secondo Tollens e Pfeiffer, la molecola dell'amido deve essere almeno quadrupla di quella sopra espressa; secondo Brown e Morris, invece deve essere trentupla, cioè:



L'amido rappresenta nel seme una sostanza di riserva: esso, generalmente, ha forma di granuli, con strati concentrici od eccentrici, disposti attorno ad un ilo puntiforme, lineare o stellato.

Facendo digerire i granuli d'amido colla saliva oppure cogli acidi diluiti, una porzione si discioglie, un'altra porzione rimane intatta, mantenendo la forma del granulo. A cotesta sostanza insolubile è stato dato il nome di *amilocellulosa*, di *farinosa* e di *granulosa*. Secondo A. Meyer però essa non sarebbe amilocellulosa, ma una sostanza tra l'amidodestrina e la destrina, la quale prenderebbe origine dall'amido stesso per una leggera idratazione provocata da qualche diastasi esistente nel granulo stesso.

(1) Il nome di *glutin-caseina* le proviene dalla somiglianza di alcune sue proprietà colla caseina animale. Difatti, la *glutin-caseina* è insolubile nell'acqua, poco solubile nell'acqua contenente fosfati acidi o basici, è precipitata dagli acidi e dal presame in fiocchi più o meno grandi, dalle soluzioni alcaline deboli.

La *glutin-caseina* ha proprietà comuni colla *legumina* e colla *conglutina*, sostanze azotate che si trovano nei legumi e nei lupini: è simile alla sostanza azotata, ottenuta, collo stesso procedimento, dalla segala e dal grano saraceno.

TAB. 55.

Amido e suoi prodotti d'idratazione	Reazione coll'iodio
Amido . . . . .	Colorazione bleu.
Amido solubile (amido destrina) . . . . .	Id. id.
Eritrodestrine. . . . .	Colorazione violetta e rossa.
Acrodestrine . . . . .	Reazione nulla.
Maltodestrina . . . . .	Id. id.
Maltosio o Iso.maltosio . . . . .	Riduce il liquido di Fehling.
Destrosio . . . . .	Id. id. id.

L'amido riscaldato, insieme coll'acqua, tra 50° ed 80° si trasforma in una massa gelatinosa, nella quale i granuli perdono completamente la loro forma. Siccome l'amido collificato non ha la proprietà di diffondersi, e siccome esso si separa, per raffreddamento della massa, si deve credere fondatamente che non si abbia da fare con una soluzione, ma con una sospensione più o meno perfetta.

Tattato l'amido con certe diastasi, come ptialina, pancreaticina, maltasi o cogli acidi diluiti si ottengono una serie di prodotti di idratazione, che reagiscono diversamente collo jodio. (Tabella 55).

Meyer A. e Musculus negano l'esistenza delle eritrodestrine, le quali non sarebbero altro che una mescolanza di una destrina che non si colora collo jodio e di amido solubile.

### Saccarosio, glucosio e destrina.

È stato molto discusso sulla esistenza o meno del saccarosio e del glucosio nel seme del frumento. Peligot ha negato l'esistenza del primo, perchè non aumentava la solubilità della calce nell'estratto acquoso; Balland, l'esistenza del secondo perchè l'estratto acquoso non riduceva il liquido di Fehling. Ma le esperienze successive di Dehérain, di Sullivan, di Kjeldahl, e di Düll, sul frumento e sull'orzo, hanno dimostrato innegabilmente la presenza del saccarosio nella quantità approssimativa di 0,5 0/10, nel primo, e di 1,5 0/10 nel secondo. Le esperienze di Schultze e Frankfurt (1) poi hanno confermato i risultati dei precedenti sperimentatori, precisandoli e chiarificandoli. Hanno fatto cioè un estratto alcoolico del seme; hanno precipitato lo zucchero allo stato di combinazione collo stronzio, insolubile nell'acqua ( $C^{2}H^{22}O^{11}$ , 2 Sr O), hanno fatto bollire il precipitato con idrato di stronzio in soluzione acquosa, per sbarazzarlo da certe impurità e l'hanno infine decomposto con acido carbonico. Dalla soluzione acquosa, in tutti i casi, hanno ottenuto il saccarosio, che egliino hanno purificato per successive cristallizzazioni ed identificato sia per

(1) *Ueber die Verbreitung der Rohrzuckers den Pflanzensamen* — Berl. Ber., 1894. XXVII, p. 62.

le proprietà organolettiche, sia per le proprietà chimiche, sia per il potere rotatorio. In cotal modo, si è potuto constatare che il saccarosio esiste in un gran numero di graminacee e specialmente nel *frumento*, *segala*, *avena*, *orzo*, *mais* e *grano saraceno*, e che nell'embrione del frumento vi ha, invece del saccarosio, un altro zucchero fermentescibile, il *raffinosisio*.

La presenza di cotesti zuccheri nei semi di cereali, ci viene spiegata anche dallo studio fisiologico della pianta dal punto di vista della saccarogenia. « I lavori di Leplay, di Aimé-Girard e di Brown e Morris hanno mostrato che nelle graminacee si forma, in principio della vegetazione, dello zucchero riduttore e soltanto un poco di saccarosio. Poi, quando appaiono gli organi di riproduzione, la quantità di saccarosio aumenta considerevolmente. Questo zucchero si accumula nel fusticino fino al momento della formazione dell'amido nel seme. Da questo momento passa nella spiga, si localizza quasi completamente nell'embrione, da dove nuovamente passa nel seme trasformandosi in amido (1). »

Per la qual cosa, il saccarosio, che non si dovrebbe regolarmente trovare nei semi maturi, ma nei semi immaturi, deve far parte della composizione del seme del frumento, perchè quello che ordinariamente serve per preparare farine e pane, contiene sempre dei chicchi non perfettamente maturi.

Il *destrosio* e *maltosio* non sembra che preesistano nel seme, ma che si formino in piccola quantità, per azione di alcune diastasi e della umidità dell'aria durante la macinazione e la riduzione in farina del grano. Pobel (2) lo ha dimostrato con un esperimento semplicissimo. Ha preso del frumento seccato a 90° e del frumento naturalmente umido, li ha tritirati nell'alcool a 95° ed ha ricercato nel liquido lo zucchero riduttore. In quello secco non ne ha trovato traccia, in quello umido ne ha trovato in quantità apprezzabile.

Ma, da molte analisi, risulta che nel seme del frumento vi sono quantità oscillanti di zucchero, destrina e gomma; in media cioè:

	Sulla sostanza secca.
Zucchero . . . . .	3,75 ‰
Destrina e gomma . . . . .	2,93 ‰

e ciò fa dubitare dell'esperienza di Pochl, che meriterebbe fosse confermata o contraddetta da più rigorose esperienze.

### Cellulosa.

La cellulosa è la sostanza di cui sono formate le pareti cellulari di tutte le piante inferiori e superiori. Negli organi giovani coteste pareti sono di cellulosa quasi pura con piccola quantità di altre sostanze organiche e di sostanze minerali; negli organi vecchi o nella parti delle piante, che hanno bisogno di una grande resistenza, le pareti cellulari sono formate di una cellulosa, modificata, per ispessimento, e nella quale il rapporto carbonio ossigeno è molto diverso da quello della cellulosa pura. Cioè, mano mano che la cellulosa diventa legno, diminuisce l'ossigeno ed aumenta il carbonio.

(1) L. BOUTROUX, *Le pain et la panification*, 1897, p. 75, 76.

(2) *Wagner's Jahresbericht*, 1874, p. 657.



La cellulosa pura è insolubile nell'acqua, nell'alcool, nell'etere, nelle soluzioni di diastasi e nelle soluzioni diluite di alcali e di acidi. È solubile nella soluzione di ossido di rame ammoniacale (1) dalla quale soluzione può essere precipitata nuovamente in forma gelatinosa, per mezzo degli acidi.

Gli acidi e gli alcali concentrati sciogliono la cellulosa decomponendola parte in destrina e destrosio, parte in acido unico ed in altre sostanze più semplici. Se si tratta una parte in peso di cellulosa pura con 30 parti di acido solforico freddo, si avrà dopo 15 minuti, una soluzione densa simile allo sciroppo di zucchero.

Nel seme del frumento esiste la cellulosa che, trattata cogli acidi concentrati, dà destrina e destrosio; la cellulosa, o una sostanza compenetrata nella cellulosa in via di lignificazione, che collo stesso trattamento dà arabinosio e xilosio (2) e finalmente la cellulosa completamente lignificata. E ciò mostra chiaramente che le membrane cellulari delle piante e dei semi non sono formate di una sostanza unica, ma di un insieme di sostanze, molte delle quali non ancora chimicamente ben definite. Quindi, la cellulosa, che noi indichiamo col nome di pura, è anch'essa una mescolanza di sostanze, che probabilmente rappresentano le varie trasformazioni che la cellulosa subisce mano mano che invecchia e tende a lignificarsi.

### Grassi.

I grassi, contenuti nel seme del frumento, sono una mescolanza di gliceridi degli acidi saturi, e non saturi, fitostearina, lecitina, ecc.

Cotesti grassi sono liquidi, alle temperature ordinarie; hanno un colore giallo paglierino, ed un odore caratteristico e molto pronunciato di nocciuola. Sono ossidabilissimi all'aria e, due o tre giorni dopo estratti, divengono viscosi, spessi ed in parte si trasformano in sostanze resinose solide, insolubili nella benzina. A questo punto acquistano un odore ed un sapore disgustoso di rancido.

### Sostanze minerali.

Le sostanze minerali del frumento sono formate di sali di *sodio*, *potassio*, *calcio*, *magnesio*, *ferro*, degli acidi *fosforico*, *solforico*, *cloridrico* e *silicico*. Nelle ceneri del frumento e dei cereali in genere predominano i fosfati alcalini, tanto che in 100 parti di esse l'acido fosforico vi si trova per una quantità oscillante tra 39,2 e 53,7.

Inoltre, le sostanze minerali non sono egualmente distribuite in tutto il seme: difettano nelle parti centrali ed abbondano nelle parti periferiche; cosicchè vanno degradando dalla periferia al centro.

(1) Neubauer consiglia di preparare il reattivo nel modo seguente: si precipita il solfato di rame con soda caustica in presenza di cloruro d'ammonio; il precipitato si depura, prima per decantazione, poi lavandolo sul filtro e si scioglie nella quantità necessaria di ammoniaca.

(2) Le sostanze che per idratazione danno gli zuccheri a 5 atomi di carbonio, hanno preso il nome di *pentosani*.

## COMPOSIZIONE DEL SEME DEL FRUMENTO.

(Aimé-Girard).

TAB. 56.

Sostanze %	Frumento di Bordeaux	Frumento di Altkirch	Frumento di Flandern	Frumento di St. Laud	Media data da König	
Umidità . . . . .	14.99	14.5	15.12	14.94	13.37	
Peso medio di un chicco . . . . .	0.051	0.038	0.041	0.050	—	
Composizione del chicco	mandorla. . . . .	85.98	84.69	83.04	84.72	—
	embrione. . . . .	1.59	1.41	1.35	1.16	—
	corteccia. . . . .	12.52	13.90	15.61	14.12	—
Sostanze solubili nell'acqua	Glucosio. . . . .	0.21	0.16	0.20	0.09	—
	Saccarosio . . . . .	0.86	1.20	1.70	0.98	—
	Sost. azotate . . . . .	1.10	1.02	1.02	1.28	—
	Galattina. . . . .	0.52	0.59	1.78	0.99	—
	Ceneri. . . . .	0.36	0.32	0.30	0.22	—
TOTALE . . . . .	3.12	3.29	4.00	3.55	—	
Sostanze insolubili nell'acqua	Glutine sost. azo- tate). . . . .	7.45	8.04	8.32	8.14	12.04
	Amide. . . . .	71.22	70.93	69.88	71.22	69.07
	Grasso. . . . .	1.07	0.84	1.12	0.95	1.91
	Ceneri. . . . .	0.20	0.29	0.40	0.40	1.71
	Cellul. e cortec. . . . .	0.23	0.25	0.22	0.23	1.90
TOTALE . . . . .	80.17	80.35	79.94	80.94	—	
Acidità in acido solforico. . . . .	0.009	0.96	0.009	0.011	—	
Rapporto $\frac{\text{Glutenina}}{\text{Gliadina}}$ . . . . .	$\frac{25}{87}$	$\frac{25}{70}$	$\frac{25}{62}$	$\frac{25}{72}$	—	

**Segale.**

La segale è il cereale più importante, dopo il frumento. La sua coltivazione è molto scarsa in Italia, ove si preferisce il frumento; ma è molto abbondante nei paesi nordici d'Europa, ove essa è la base dell'alimentazione del popolo.

Il seme della segale, chimicamente, poco differisce da quello del frumento. Esso contiene le stesse sostanze azotate, ad eccezione della *Gliadina*

e della *Glutinfibrina*. Ritthausen vi ha trovato solo l'*Albumina*, la *Mucedina* e la *Glutencaseina*.

Le sostanze azotate, dalla farina di segale, non si possono facilmente raccogliere, sotto forma di glutine, ed esse sono formate di 95  $\frac{0}{100}$  di proteidi e 5  $\frac{0}{100}$  di amidi, ecc.

Il grasso è costituito di acidi liberi, di gliceridi e di fitostearina. Esso contiene, secondo Ritthausen, solo acido oleico ed acido palmitico. È molto poco digeribile, in confronto ai grassi contenuti nei semi di altri cereali. Difatti il suo coefficiente di digeribilità è 16,59 in confronto a quello dell'avena, che è 84,01, e dell'orzo, che è 75,41.

Le sostanze non azotate, solubili nell'acqua, consistono di saccarosio, destrosio, destrina e gomma. La quantità media di esse è espressa dalle cifre seguenti:

	Nella sostanza secca %
Zucchero . . . . .	4,33
Destrina e gomma . . . . .	5,45

Nella segale vi è una gomma solubile nell'acqua e nell'alcool 50  $\frac{0}{100}$  che ha la composizione della ordinaria gomma delle piante *C<sup>6</sup>H<sup>10</sup>O<sup>3</sup>* ed alla quale è stato dato il nome di *secalina* (Ritthausen).

### Orzo.

L'orzo si coltiva in Italia in quantità abbastanza grande e serve principalmente per foraggio e per la fabbricazione della birra; in piccola quantità soltanto per l'alimentazione dell'uomo.

L'orzo contiene le stesse sostanze azotate del frumento, cioè: *Glutencaseina*, *Glutinfibrina*, *Mucedina* e *Gliadina*.

Il glutine della farina di orzo si separa malamente, nell'identico modo che avviene per la farina di segale. In 100 parti di sostanze azotate vi sono 95,60 di proteidi e 4,40 di amidi, ecc.

Il grasso, secondo Stellwaag, contiene 13,62  $\frac{0}{100}$  di acidi grassi, 71,78  $\frac{0}{100}$  di gliceridi, 4,24  $\frac{0}{100}$  di lecitina, 6,08  $\frac{0}{100}$  di fitostearina.

Le sostanze non azotate, solubili nell'acqua, sono: *saccarosio*, *maltosio*, *destrina*, ecc. La quantità media di queste sostanze contenute in 100 parti di sostanza secca è:

Maltosio . . . . .	1,76
Destrina . . . . .	7,43

### Avena.

Si coltiva molto abbondantemente in Italia e serve più per la nutrizione degli animali che per la nutrizione dell'uomo. In qualche luogo soltanto, ove la miseria fa utilizzare, come alimento, i vegetali più vili, serve l'avena per fare del pane sola o mista con granturco o con frumento.

Le sostanze azotate dell'avena sono costituite, secondo Ritthausen e Kreuzler, quasi esclusivamente di *Gliadina* (1,66  $\frac{0}{100}$ ) e di *Glutencaseina*, la quale ha la composizione della legumina e possiede le proprietà della

*Glutincascina*. Inoltre contiene da 1,29 % a 2,30 % circa di albumina vegetale.

Il 95 % dell'azoto della sostanza azotata appartiene alle sostanze proteiche, il 5 % alle amidi, ecc.

L'avena contiene, a differenza degli altri cereali, una quantità molto elevata di sostanze grasse, le quali sono composte, presso a poco, come quelle del frumento, segala, ecc.

Le sostanze non azotate, solubili nell'acqua, sono: *saccaroso*, *destrosio*, *gomma* e *destrina*. La quantità di queste sostanze raggiunge le cifre seguenti:

	Sulla sostanza secca %
Zucchero . . . . .	1,95
Destrina, gomma, ecc. . . . .	2,15

### Riso.

La coltivazione del riso in Italia è limitata alla bassa pianura del Po, della quale rappresenta quasi il principale prodotto.

Il consumo del riso è molto esteso come minestra: in qualche luogo se ne fabbrica anche del pane, mescolandolo alla farina di frumento. Il riso italiano si esporta in quantità considerevole, perchè è più stimato del riso di altra provenienza. Il rapporto tra il seme e la spelta è di 79:21 %.

Le sostanze non azotate, solubili nell'acqua, si trovano nel riso nelle quantità seguenti:

Zucchero e gomma . . . . .	0,86	1,45 % (Berger I.)
Gomma . . . . .	1,05	1,85 % (Semmler H.)
Zucchero. . . . .	8,65 %	} (Kreusler e Dafert).
Destrina. . . . .	3,35 %	

### Granturco.

Il granturco (*zea mais*) è un cereale d'origine americana, introdotto in Europa nel sedicesimo secolo. Si coltiva oggi abbondantemente in Italia e forma la base dell'alimentazione del nostro contadino. La forma alimentare più comunemente usata è la polenta, poi viene la pizza e finalmente il pane.

Le varietà di granturco, che più frequentemente si coltivano, sono: il *granturco grosso americano*, il *quarantino piccolo italiano*, ed il *dente di cavallo*.

Le sostanze azotate del granturco sono formate, in massima parte, di *Fibrina vegetale*, che è un po' diversa dalla *Glutinfibrina*, ed essa dà al seme del granturco l'aspetto corneo caratteristico. Oltre alla fibrina contiene poca *Legumina* ed *Albumina*. Di quest'ultima Pillitz ne ha trovato 1,87 %.

Collier P. ha chiamato la sostanza azotata, solubile nell'alcool, *Zeina*, per differenziarla da quella degli altri cereali e ne ha trovato da 1,85 a 7,86 %.

Dell'azoto totale, contenuto nel seme del granturco, 95 % appartengono alle sostanze proteiche, 5 % alle amidi, ecc.

Le sostanze non azotate, solubili nell'acqua, sono: *zucchero, destrina e gomma*. La loro quantità è espressa dalle seguenti cifre.

	Sulla sostanza secca
Zucchero . . . . .	2,56
Destrina e gomma . . . . .	1,25

Lebbin e Plagge inoltre hanno studiato la distribuzione delle sostanze nutritive nelle diverse parti del seme del granturco ed i risultati li hanno raccolti nella tabella seguente :

### COMPOSIZIONE DEL SEME DEL GRANTURCO.

Tab. 57.

Qualità e parti del seme	Nel seme sono contenute:		Nelle singole parti si trovano:			
	Acqua	Proteina	Grasso	Idrati di carb.	Ceneri	
<b>Granturco Dent di cavallo.</b>						
Seme intero . . . . .	—	41.38	8.09	5.79	84.61	1.50
Cortecce (crusca) . . . . .	9.35	8.66	8.32	7.24	82.81	1.63
Embrioni . . . . .	41.78	6.70	13.75	29.36	46.69	7.23
Parte centrale del seme . . . . .	78.87	18.59	7.17	1.12	91.48	0.23
Parte dura del seme . . . . .	49.79	42.46	8.04	0.64	91.11	0.21
Parte farinosa del seme . . . . .	29.08	9.68	6.46	0.93	92.27	0.34
<b>Granturco giallo.</b>						
Seme intero . . . . .	—	41.33	8.86	3.57	85.94	1.64
Cortecce (crusca) . . . . .	7.93	10.10	9.28	3.52	85.41	1.79
Embrioni . . . . .	43.83	9.27	15.81	22.29	53.71	8.19
Parte centrale del seme . . . . .	78.24	17.65	8.09	0.34	91.22	0.35
Parte dura del seme . . . . .	57.48	43.97	9.68	0.52	89.49	0.31
Parte farinosa del seme . . . . .	20.76	11.61	6.46	1.35	91.81	0.38

Le cifre, che rappresentano la composizione media dei vari cereali, non sono assolute; esprimono semplicemente la fisionomia di ognuno di essi, poichè la quantità dei componenti nei singoli cereali varia entro limiti molto estesi

Così, pigliando per esempio le sostanze azotate, troviamo che nel frumento esse possono variare tra 8 e 18; nella segala tra 7,27 e 19,71; nell'orzo tra 15,81 e 16,70; nell'avena tra 6 e 18,84; nel riso tra 4,50 e 11,21; nel mais tra 5,55 e 14,31.

Coteste oscillazioni dipendono da varie cause: dalla stagione più o meno propizia alla maturazione; dalla invasione più o meno grande dei parassiti; dalla composizione del terreno su cui vegetano; dalla concimazione più o meno razionale e non di rado anche dalla qualità del seme e dalla varietà impiegata.

Quindi, ogni volta che si voglia calcolare le sostanze nutritive contenute in un dato cereale, non è consigliabile ricorrere alle medie, ma alle analisi fatte volta per volta.

### Utilizzazione dei cereali per alimentazione umana.

Non tutte le parti del seme dei cereali sono digerite ed assimilate; ma soltanto alcune ed in determinate condizioni. Così la cellulosa lignificata e le cellule aleuroniche intatte attraversano lo stomaco e l'intestino senza essere affatto alterate. Difatti le esperienze di Poggiale, le più antiche di data, hanno dimostrato che le cellule aleuroniche attraversano il tubo digerente di un cane per tre volte successivamente senza perdere tutta la sostanza azotata assimilabile che nel loro interno contengono. E queste esperienze furono confermate ed ampliate da Rathay e da Aimé-Girard. Il primo si nutrì per più giorni, di pane fatto con del grano grossolanamente tritato e constatò che dopo la digestione la struttura istologica delle cellule della crusca non era affatto alterata.

Il secondo sottomise alla digestione le cortecce di frumento, completamente private di amido e di sostanze solubili, per successivi lavaggi con acqua tiepida, e seccate a 100°. Dopo la digestione, egli ritrovò le cortecce colle cellule aleuroniche intatte. Coteste cortecce raccolte, lavate ed analizzate, contenevano 15,62 °/o di sostanze azotate, invece di 16,35, che ne contenevano prima: ne erano state utilizzate, cioè, 0,73 °/o; una quantità veramente insignificante.

Stone W. E. inoltre ha voluto sperimentalmente conoscere se i pentosani, di cui è ricca la crusca, siano un alimento per l'uomo, ed ha visto che in un caso erano stati assimilati 40 % dei pentosani presenti ed in un altro 60 °/o.

Sembra infine che le parti legnose del frumento non siano completamente innocue e contengano delle sostanze solubili con proprietà lassative. Onde è molto ricercato ed utile in certi stati patologici, il pane di tutta farina o, come oggi si chiama, *completo*.

Quindi, allorchè si voglia apprestare il frumento per farlo diventare un alimento per l'uomo, è necessario che sia triturato

finamente e liberato da certe parti indigeste od, in certo modo, dannose. Ciò si può fare colla macinazione e coll'abbruttatura dei prodotti che si ottengono dalla macinazione.

### Macinazione.

Il grano, o qualunque altro cereale, prima di essere sottoposto alla macinazione, deve essere privato di tutte le sostanze straniere che lo accompagnano come: terra, corpi leggeri, vecchia, loglio, agrostemma, ecc., e dalle sostanze che aderiscono al seme o che ne fanno parte, come la polvere e le barbette.

Per separare i semi stranieri, di forma diversa da quella del frumento, servono i crivelli senza aspirazione. Questi sono dei dischi di latta, bordati di legno, disseminati di piccoli fori, della forma delle zizzanie che si vogliono separare, oppure disseminati di fori un po' più grandi del seme del frumento per far passare questo al disotto e per trattenere sul crivello i semi più grandi.

Per togliere i semi leggeri, le parti leggere e la polvere, servono i crivelli con aspirazione, attraverso i quali passa una corrente d'aria, capace di trascinare soltanto le mondiglie che hanno una densità minore del seme del frumento. La corrente d'aria va dal basso all'alto: dimodochè il frumento discenderà; le mondiglie saliranno e saranno gettate in parte diversa.

I semi più difficili ad essere separati sono quelli che hanno un volume ed una densità poco diversa da quella del frumento. Per questo, servono degli apparecchi di lamiera cilindrici nell'interno dei quali sono impressi degli alveoli colla forma del seme che si vuol separare. Il grano passando per questi apparecchi, scivola, e, per mezzo di una vite d'Archimede, viene portato fuori; mentre i semi stranieri si incuneano e cadono in un canale da dove escono in parte diversa.

Per separare le barbette, o i peli che si trovano nella parte estrema del seme, serve una colonna fatta di fili d'acciaio in-quadrati, in mezzo alla quale si muove un albero verticale, animato da una grande velocità e portante piatti con alette di ghisa. Il frumento cadendo nel centro dei piatti: in virtù della forza centrifuga, batte continuamente contro la colonna, e si spoglia di quasi tutte le sue barbe. Una parte di queste, in forma di polvere, attraversa la rete metallica, un'altra parte si asporta mediante una corrente d'aria che passa nell'interno della colonna e percorre la via inversa a quella del frumento.

Per separare poi la polvere, che aderisce al seme o che ne riempie le cavità, serve la spazzola meccanica, che è un cilindro ricoperto di crini molto rari e che, strisciando sui semi, li netta perfettamente.

Per la macinazione del grano, si usavano, tempo addietro, soltanto le macine di pietra, oggi si usano le macine e gli apparecchi a cilindri, sistema ungherese.

**MACINE.** — Le macine sono di granito e di arenarie durissime, costituite di un disco rotondo del diametro di m. 1,30 a m. 1,50 e di una base fissa, dello stesso materiale, sulla quale posa il disco mobile. Questo porta un foro circolare nel centro, chiamato occhio, per il quale entra il grano da macinare. Le faccie combacianti delle due parti sono divise, dal centro alla periferia, in 14 o 16 raggi o scanalature, ed in altrettanti piccoli raggi della stessa forma, ma meno lunghi. I raggi o le scanalature sono generalmente fatte in modo da tagliare il frumento come fanno le forbici.

Un perno è fissato alla macina mobile per il quale questa può essere trascinata in un rapido movimento di rotazione.

Dopo sette od otto giorni di lavoro, quando la pietra è dura e dopo quattro giorni, quando la pietra è tenera, bisogna rifare le scanalature, che lo sfregamento ha distrutto.

Le due parti della macina devono essere sempre equilibrate e l'intervallo che esiste tra di esse non deve variare. Perciò si praticano ai quattro punti, diametralmente opposti, della parte fissa delle cavità che si riempiono di piombo, il quale può essere aumentato o diminuito a volontà, a seconda che si voglia fare aumentare o diminuire l'intervallo tra le due macine.

**MACINAZIONE ALTA.** — La macinazione alta si potrebbe chiamare anche macinazione graduale, poichè il frumento prima si sottomette all'azione di una macina, nella quale l'intervallo interposto tra la parte mobile e la parte fissa è piuttosto grande. Ciò permette al grano di non sfarinarsi completamente, ma di ridursi in una specie di semolino mescolato ad un po' di farina. Questo prodotto si sottopone ad una stacciatura nella quale si ottiene il 20 % di farina di *primo getto*, 54 % di semolino e 26 % di prodotti diversi. I due ultimi sottomessi ad una nuova macinazione, con macine più ravvicinate, danno 57 % di farina di secondo getto e 21 % di crusca.



**MACINAZIONE BASSA.** — Nella macinazione bassa, il grano passa sotto la macina una volta sola, essendo però la parte mobile molto ravvicinata alla parte fissa. Al buratto si ha il 50 % di farina di primo getto; 28 % di semolino, che, sottomesso ad una nuova macinazione, dà ancora 25 % di farina secura e 25 % circa di crusca.

Dal punto di vista della resa, sarebbe difficile pronunciarsi in favore dell'uno o dell'altro processo; dal punto di vista della qualità delle farine, la macinazione alta sembra preferibile. Prima perchè non disgrega troppo il grano, non lo altera e non lo riscalda troppo; secondo perchè la farina di primo getto è superiore in bianchezza a quella della macinazione bassa. Inoltre i tritelli, essendo più grossi, si spogliano, nella rimacinazione, più facilmente della crusca e danno ancora 5 o 6 % di farina secura, che può essere utilizzata separatamente.

**MOLINI AMERICANI.** — I molini ad una macina bastano soltanto ai bisogni d'una popolazione limitata; ma se si voglia imprendere su vasta scala l'industria delle farine, è necessario impiegare dei mezzi molto più potenti.

Negli Stati Uniti fu inventato il sistema, detto poi americano, per il quale lavorano riunite nello stesso piano, dieci coppie di macine, messe in azione da un unico motore. Questo sistema fu importato in Inghilterra ed in Francia nel 1817 ed in Italia nel 1852 (Collegno).

I molini americani agiscono tanto colla forza idraulica, quanto col vapore: la trasmissione della forza si fa con ingranaggi di ghisa forniti di un meccanismo che permette di fermare a piacimento ogni coppia di macine isolatamente, senza interrompere il lavoro delle altre.

Le macine di cotesti molini hanno un diametro di m. 1,30 e girano con velocità di 115 giri al minuto. La farina cade in un piatto circolare, che girando costantemente sotto le dieci paia di macine, la versa in una scatola, da dove una vite senza fine la porta ad una catena a secchielli, che la solleva nella camera dei buratti.

**SISTEMA A CILINDRI OD UNGHERESE.** — Questo sistema è molto in uso in Italia negli stabilimenti industriali, d'installazione relativamente recente.

Il frumento, con questo sistema, si tritura tra varie coppie di cilindri di ghisa disposte in serie. I cilindri della prima coppia hanno lo stesso diametro e le stesse scanalature, ma uno di essi ha l'asse fisso e gira in modo rapidissimo (500 giri al minuto),

l'altro, compresso da una molla, gira più lentamente, (100 giri al minuto). Il frumento si dispone entro le scanalature del primo cilindro, ove, essendo compresso dall'altro è costretto a rompersi nel senso della sua lunghezza e se nei semi sia rimasto ancora qualche germe, schizza e va nella crusca. Il grano, così diviso, passa ai buratti, ove si libera dalla polvere nera, poi entra in una seconda coppia di cilindri, provvisti di scanalature più fine e più ravvicinati tra loro; torna nuovamente ai buratti ove si separa la prima farina e ciò che rimane nel buratto passa attraverso ad una terza, una quarta, una quinta, ecc., coppia di cilindri, i quali hanno rigature sempre più sottili e schiacciano sempre più fortemente il frumento. Il lavoro di ogni coppia di cilindri si trasforma nel buratto in una quantità di farina che va diminuendo di bianchezza e di valore dal primo al quinto, al decimo paio, ecc. Sicchè arrivati all'ultimo paio di cilindri si ha farina, semolino e crusca più o meno grossa. I semolini sono classificati per mezzo di speciali apparecchi e rimacinati con cilindri lisci di acciaio o di porcellana, chiamati *convertitori*.

Questi cilindri si muovono a sfregamento leggero e con velocità differenti: uno, quello che corre meno veloce, è, oltre al suo movimento di rotazione, animato da un movimento di va e vieni da diritta a sinistra, senza cessare per questo, di essere a contatto coll'altro cilindro.

La classificazione dei semolini ha una grande importanza, perchè tra i convertitori è necessario che passino i semolini, che abbiano granelli tutti di un eguale volume e di una eguale durezza, altrimenti i più teneri sopportando una pressione troppo forte si trasformano, invece che in farina, in laminette solide che non si digregano più ai buratti.

Il vantaggio dei cilindri sulle macine sta in questo: nel digregare, cioè, il frumento progressivamente senza affatto riscaldarlo e dare una farina meglio panificabile, non essendo affatto alterate le proprietà del glutine. Inoltre si può ottenere un maggior numero di qualità di farine, classificandole secondo la loro bianchezza. È vero che con questo sistema la maggior parte del glutine passa nelle farine scure, ma questo, anzichè un difetto, si può considerare un pregio, poichè è bene che le farine, che devono servire per l'alimentazione della povera gente, la cui razione scarseggia di sostanze azotate, siano le più ricche possibile di coteste sostanze, togliendole naturalmente alle farine che devono servire all'alimentazione dei ricchi, la razione dei quali è esuberante di sostanze azotate.

BURATTI. — Il buratto o frullone, in origine, era una costruzione esagonale di legno, ricoperta di velo di seta, mossa da un albero situato al centro. Il buratto stava leggermente inclinato entro una cassa di legno con varii compartimenti che si poteva chiudere ermeticamente e nella quale si raccoglieva la farina.

Il velo aveva maglie di varia dimensione, per vari tratti della lunghezza del buratto, ed ogni velo con maglie diverse corrispondeva ad un compartimento della cassa. Sicchè, introducendo la farina nella parte più elevata del buratto ed imprimendo a questo un movimento di rotazione intercalato da scosse periodiche e continue, nel primo compartimento della cassa cade il fiore, nel secondo la farina di seconda e così di seguito, fino a raccogliere nel fondo la crusca.

Il frullone fu sostituito in seguito dai buratti inclinati, i quali sono rettangoli di legno col fondo di seta, mossi da uno o più eccentrici che imprimono loro dei movimenti oscillatori, per i quali la seta ben tesa vibra, la farina passa al disotto e la crusca balla continuamente e va a cadere alla estremità più inclinata.

Una corrente d'aria, che traversa il buratto dal basso all'alto, facilita la stacciatura e rimuove dai fori del velo una polvere fina, chiamata *soffiatura*, la quale, essendo molto grassa, aderirebbe ad essi e li chiuderebbe completamente.

Oggi si impiega molto, per l'abburattatura delle farine, il buratto orizzontale di Ménager (Plansichter Ménager) costituito di una cassa rettangolare, sospesa al soffitto della camera per mezzo di quattro bacchette elastiche di canna d'India. Nell'interno della cassa vi sono un certo numero di setacci sovrapposti, muniti di veli di seta di cui variano i numeri a seconda del lavoro che si deve effettuare. La cassa è animata da un movimento d'oscillazione circolare, così da imitare esattamente l'abburattatura a mano. Il movimento di progressione della materia da abburattare si ottiene per mezzo di alette mobili che permettono alla farina di avanzare senza poter tornare indietro. Piccole scosse, prodotte automaticamente ed in una maniera continua, mantengono la seta continuamente propria e tersa.

DECORTICAZIONE. — Siccome riesce tecnicamente difficile togliere alla crusca tutte le sostanze azotate albuminoidi, è stato pensato di decorticare il seme prima di essere macinato. Per tale scopo sono stati proposti processi chimici e processi meccanici, i

quali però non hanno dato risultati soddisfacenti, al punto da essere applicati largamente e da sostituire i vecchi sistemi di macinazione e di separazione delle cortecce.

Il chicco, con questo procedimento, si spoglia quasi completamente della cuticola, rimanendo, della stessa forma e presentando quasi lo stesso aspetto di prima. Interessante è questo che dal seme non sono affatto o quasi asportate le cellule aleuroniche, che non si riscontrano nelle fogliette di cuticola osservate al microscopio (processo Steinmetz).

**MACINAZIONE DEL GRANTURCO.** — Il granturco, a differenza di quanto avviene per il frumento, non si è potuto fin qui liberare dalla sua corteccia e dai grassi dell'embrione; cosicchè la farina ha la composizione identica a quella del seme.

La macinazione del granturco coi cilindri e le macine in piano non evita l'inconveniente sopra menzionato, come pure non risolve completamente la questione il sistema Sheppard, brevettato, qualche anno fa, in Inghilterra. Con questo sistema, i chicchi si sottopongono all'azione del vapore soprariscaldato fino a che siano arrivati ad una certa cottura; poi, così caldi ed umidi, si passano sotto macine di pietra che girano con una grande velocità, per la quale essi sono costretti ad uscire ridotti in piccoli ricci quasi seccati e privi della corteccia e degli embrioni. La farina si ottiene rimacinando cotesti ricci ed abbruttando il prodotto della rimacinazione per separarlo da qualche pezzo di corteccia che ancora vi si possa trovare mescolata. La farina così ottenuta, ha innegabilmente un grande vantaggio su quella ottenuta cogli altri sistemi, perchè contiene una quantità molto più piccola di cellulosa, di grassi ed una quantità relativamente più grande di sostanze azotate. Essa offre però un inconveniente gravissimo che la rende praticamente inusabile, ed è questo: che la cottura dei chicchi è portata a tal punto che la farina, che ne deriva, non solo è inadatta a far polenta, perchè rimane collosa ed appiccaticcia, ma panifica peggio di quella macinata col vecchio sistema. Per la qual cosa, o si doveva continuare, come per il passato, oppure si doveva trovare un nuovo metodo di macinazione del granturco che avesse i pregi di quello Sheppard senza averne i difetti. Ed a questo fortunatamente si è riusciti, modificando il processo Chiozza-Camus, noto fin dal 1876.

I chicchi di granturco si inumidiscono prima con una soluzione di bisolfito di soda, collo scopo di far gonfiare la corteccia ed anche di sterilizzarla parzialmente, poi si sottopongono al-

l'azione del vapore soprariscaldato, per brevissimo tempo, e subito dopo, si fanno passare attraverso più coppie di cilindri. L'epidermide del chicco allora si distacca così bene dalla parte utilizzabile, insieme all'embrione, che essa apparisce traslucida e chiara. La farina, che in tal modo si ottiene, è finissima, possiede tutte le proprietà della farina ottenuta coi vecchi sistemi, ma da questa si differenzia per la minor quantità di cellulosa, di grasso e di sostanze minerali. Essa quindi sostituisce, con grande vantaggio, le farine macinate con altri sistemi per far polenta, pizza e pane.

CLASSIFICAZIONE DELLE FARINE. — Per la classificazione delle farine, nelle industrie si piglia per base la bianchezza; ma ognuno vede che cotesto carattere ha molto di subiettivo o di arbitrario e può indurre ad errori grossolani.

Vetròdi e Cherkez, più razionalmente, hanno proposto di classificare la farine, prendendo per base la quantità di sostanze minerali o di sostanze solubili nell'etere, che esse contengono. Poichè ambedue queste sostanze crescono costantemente, mano mano che dal centro del seme si va alla periferia, ovvero mano mano che le farine divengono più seure e si avvicinano alla crusca.

Nella tabella 58 sono rappresentati i limiti entro i quali devono essere comprese le suddette sostanze per ogni classe di farina.

TAB. 58.

Marca	Generi	Grasso
Farina marca 0 . . . . .	0.20-0.34	0.60-0.95
» » 1 . . . . .	0.35-0.39	0.96-1.05
» » 2 . . . . .	0.40-0.43	1.06-1.15
» » 3 . . . . .	0.44-0.52	1.16-1.25
» » 4 . . . . .	0.53-0.60	1.26-1.45
» » 5 . . . . .	0.61-0.70	1.46-1.62
» » 6 . . . . .	0.74-1.16	1.63-1.84
» » 7 . . . . .	1.17-1.80	1.85-2.50
» » 8 . . . . .	1.81-3.15	2.51-3.45

Fabris e Severini ritengono farine *fine* quelle che contengono una quantità di ceneri fino a 0,6 ‰, *medie*, da 0,6 ad 1 ‰, farine da foraggio, da 1 in su.

## Analisi delle farine.

Una buona farina di frumento deve essere di un bianco giallastro, senza punti rossastri, grigi o neri; deve essere molle al tatto; deve aderire alle dita e non deve impastarsi quando si comprime nella mano. Inoltre non deve avere odore di muffa o di qualsiasi altra cosa che impressioni malamente il senso dell'odorato; non deve avere sapore amaro, di leguminosa o di altro che si allontani da quello noto di una buona pasta di farina di frumento. Non deve avere reazione alcalina, deve dare una pasta omogenea, elastica e molto tenace.

Le farine, da qualunque seme provengano, hanno tutte la stessa composizione grezza. Contengono cioè: *umidità, amido, sostanze azotate alluminoidi e non alluminoidi, grasso, sostanze minerali e sostanze legnose provenienti dalla corteccia del seme*. Si capisce facilmente che l'analisi quantitativa soltanto può far decidere della maggiore o minore bontà di una farina e del maggiore o minore potere nutritivo. Onde è di grande interesse imparare a conoscere i metodi per la determinazione delle sostanze su accennate.

### Umidità.

L'umidità si determina, pesando 10 grammi di farina in una capsula di platino, facendoli essiccare in stufa ad aria, riscaldata a 100° C., per più ore. Si fa raffreddare capsula e farina in un essiccatore e si pesa in scatola di cristallo. La differenza tra la prima e la seconda pesata dà la quantità di acqua contenuta in quel determinato peso di farina messo ad essiccare, la quale quantità, con semplice calcolo, si riferisce a 100.

### Sostanze minerali o ceneri.

Le sostanze minerali si determinano bruciando la farina, che ha servito per la determinazione dell'umidità, esponendo la capsula ad una fiamma Bunsen ordinaria. Dopo aver bruciato i prodotti volatili, rimarrà nel crogiuolo una massa carboniosa, che ossidandosi lentamente lascerà, come residuo, le sostanze minerali bianche. In questo secondo periodo della determinazione, si deve regolare la fiamma in modo da riscaldare la capsula fino al rosso scuro e ciò per evitare perdite, perchè i sali alcalini, che in massima parte formano le ceneri dei cereali, a temperature molto elevate volatilizzano.

Si pesa la capsula colle ceneri e da questo peso, detratto quello del crogiuolo vuoto, si ha il peso delle ceneri. Con facile calcolo si riferiscono a 100 di farina, umida o secca.

### Acidità.

L'acidità, come le altre sostanze, delle quali parleremo in seguito, è bene che sia determinata sulla farina seccata in stufa antecedentemente e mantenuta secca in un essiccatore a cloruro di calcio.

Per questa determinazione si pesano 10 gr. di farina, si mettono, senza perdite, in un matraccio tarato di 250 cmc., si riempie fino al segno con acqua distillata e si sbatte fortemente. Si lascia la farina in contatto coll'acqua per un'ora, avendo l'avvertenza di agitare di tanto in tanto. Si filtra. del filtrato si pigliano 100 cmc. ed in essi si determina l'acidità, servendo da indicatore la fenoltaleina. L'acidità si calcola in acido lattico, sapendo che ad 1 cmc. di potassa  $N/_{10}$  ne corrispondono gr. 0,009.

L'acidità nelle buone farine oscilla tra 0,024 e 0,073 e cotesta acidità sta in relazione colla quantità e qualità del glutine, perchè ad una forte acidità corrisponde una quantità scarsa di glutine secco ed un potere di idratazione del glutine molto scarso.

### Sostanze azotate.

Le sostanze azotate si determinano col metodo di Kjeldahl, pigliando per la determinazione un grammo circa di farina secca.

Per pesare la farina, si impiega un pesafiltri, fornito di taracciolo finalmente smerigliato ed a tenuta perfetta.

In esso si introduce la farina secca, si chiude e si pesa; con una spatola di platino si preleva quel tanto di sostanza necessaria per la determinazione, si chiude nuovamente e si ripesa. La differenza tra le due pesate, rappresenta la quantità precisa di sostanza prelevata.

Quando sia stata trovata la quantità percentuale di azoto, contenuto nella farina, si moltiplica per 5,7 (Ritthausen) e si avrà la quantità corrispondente di sostanza azotata.

### Grasso.

Il grasso si determina prelevando dal pesafiltri 5 o 6 gr. di farina e chiudendola in un cilindretto di carta bibula. Questo si mette poi nell'estrattore di Soxhlet e si opera, per il resto, nel modo identico che si è detto per il latte.

### Sostanze legnose.

Per la determinazione delle sostanze legnose, König ha proposto di operare nel modo seguente: Si mettono 5 gr. di farina in un pallone di Jena, della capacità di circa 600 cmc., e si uniscono con 200 cmc. di glicerina del peso specifico 1,230 contenente 20 gr. di acido solforico concentrato per litro. Si unisce il pallone con un refrigerante, si riscalda il liquido fino all'ebollizione che deve avvenire tra 131° e 133° C. e si mantiene a questa temperatura un'ora precisa.

Quando il liquido ha raggiunto la temperatura di 120°-130° incomincia a spumeggiare: deve essere allora interrotta l'ebollizione, finchè le gocce di liquido che si condensano e che cadono non rompano la spuma che successivamente si forma. Dopo un'ora di ebollizione il liquido si fa raffreddare a 80° o 90°, si allunga con 200 o 250 cmc. di acqua bollente, aggiunta a piccole porzioni e si filtra per filtro d'amianto. Il residuo, rimasto nel filtro, si lava con 300 o 400 cmc. di acqua calda, poi con 50 cmc. di alcool 93°.

e finalmente con un miscuglio caldo di alcool ed etere fino a che esso appa-  
risca completamente scolorato. Il filtro si mette in un crogiuolo di platino,  
si fa seccare e si pesa. Si calcina poi fino a che l'amianto sia divenuto bianco  
perfettamente e si ripesa. La differenza tra le due ultime pesate rappresenta  
la quantità di sostanze legnose contenute in cinque grammi di farina. Con  
un facile calcolo si può riferire a 100.

Il pallone, in questa operazione, non deve essere riscaldato direttamente,  
per evitare una parziale carbonizzazione della materia, ma su di una rete  
metallica, guernita di amianto, o su di una coppa d'amianto.

### Amido.

L'amido si determina per differenza, sottraendo, cioè, da 100 lo somma :  
acqua, ceneri, sostanze azotate totali, grasso e sostanze legnose.

### Glutine.

15 gr. di farina secca si impastano in un mortaio di porcellana colla minor  
quantità possibile di acqua potabile (Morishima) e colla maggiore accuratezza,  
per evitare perdite di farina. Il piccolo pastone si lascia a sè per un'ora (1)  
affine di permettere al glutine di idratarsi al massimo, poi si chiude entro  
una pezzuola e si lava sotto un getto di acqua, piuttosto esile, muovendolo  
delicatamente e continuamente tra le dita (fig. 257). La lavatura deve conti-  
nuare fino a che l'acqua scenda leggermente opalescente, ovvero fino a che la  
pasta non contenga più amido. A questo punto, si apre la pezzuola, si toglie  
accuratamente tutto il glutine contenutovi, si lava ancora una volta, tenen-  
dolo nel cavo della mano, si comprime fortemente e si pesa. In cotal modo,  
si ottiene la quantità di glutine umido in 15 gr. di farina, quantità che, con  
facile calcolo, si può riferire a 100.

Qualora, per evitare facili errori, si voglia pesare il glutine secco piuttosto  
che umido, basterà, dopo tolto dalla pezzuola, di tenerlo in stufa, riscaldata  
tra 100° e 105°, fino a perdita di peso. Come regola generica, il glutine  
umido ha un peso quasi triplo del glutine secco.

Per la determinazione del glutine, Balland raccomanda di fare una pasta  
con 50 gr. di farina e 20 o 25 gr. di acqua, di lasciare in riposo per 25 mi-  
nuti e di dividere poi la massa in due parti eguali. In una si determina il  
glutine immediatamente, in un'altra dopo un'ora e dopo avere, in ambedue i  
casi, stretto il glutine tra le mani prima di pesarlo. Dopo la pesata, si lavano  
ancora i due pezzi di glutine, per 5 minuti, e si ripesano nuovamente. La me-  
dia di queste quattro pesate dà il peso del glutine umido contenuto nella farina.

Una buona farina non deve dare meno del 25 % di glutine  
umido, oppure meno di 1.9 parti di azoto per 100 di farina secca.  
In generale il glutine oscilla tra 30 e 35 %.

(1) Frear, a complemento delle ricerche di Rénard e Girardin, sul tempo necessario per  
avere la massima idratazione del glutine e per avere quindi i risultati più elevati possibili e  
più concordanti, afferma che sono necessari  $\frac{3}{4}$  d'ora od un'ora. Un ulteriore riposo della  
pasta ne rende difficile la lavatura, per la crosta che si forma alla superficie.



### Valutazione della panificabilità delle farine.

Il glutine umido, quando sia esposto alla temperatura di 150° C., si dilata, e questa dilatazione è proporzionale alla quantità di acqua che esso contiene e, per conseguenza, alla sua bontà, poichè è noto che il glutine migliore è quello che assorbe una maggior quantità di acqua.

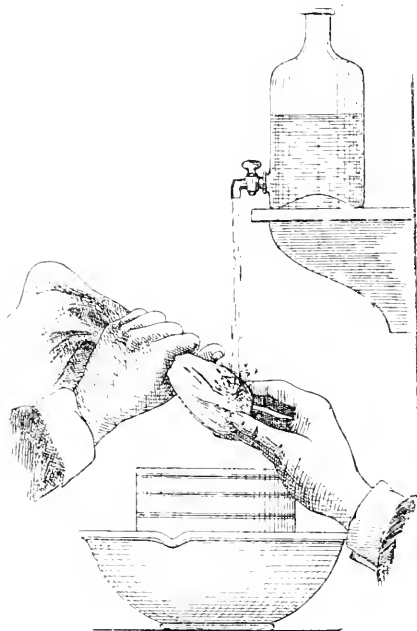


fig. 257.

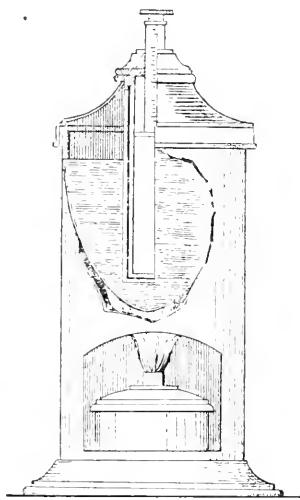


fig. 258.

Boland, fondandosi su questo fatto, ha costruito un apparecchio, che ha chiamato *aleuometro* (fig. 258), col quale si può misurare la dilatazione od il rigonfiamento del glutine e perciò si può con esso determinare la maggiore o minore bontà di una farina per far del pane.

Questo apparecchio è costituito di un cilindro cavo di rame di 17 cm. circa di lunghezza e di cm. 3 di larghezza (fig. 259), avente il fondo chiuso e mobile. Nella parte superiore il coperchio porta un pistone lungo 5 cm. terminante in basso con una placca di metallo rotonda della dimensione un po' minore del lume del tubo e capace di muoversi liberamente in alto ed in basso, sollevando ed abbassando il pistone.

Questo è diviso in 25 parti eguali e, quando è completamente immerso nel cilindro, al di sotto vi ha uno spazio

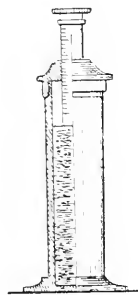


fig. 259.

vuoto eguale perfettamente alle 25 divisioni del pistone: sicchè la graduazione va effettivamente fino a 50.

Per la determinazione, si pesano 7 gr. di glutine, estratto da 30 gr. di farina, impastata con 17 emc. di acqua e lasciata in riposo per un' ora, si rotola il glutine nella farina, per limitarne il potere adesivo e si adatta nel fondo mobile del tubo. Il quale, quando è in ordine, si immerge in un recipiente di rame, riempito d'olio che viene riscaldato con fiamma ad alcool.

Quando la temperatura è arrivata a 150° si mantiene per 10 minuti, nei quali il glutine può gonfiarsi al massimo e può innalzare il pistone, mettendo allora allo scoperto il numero dei gradi.

Il glutine, della migliore farina, non va mai al di sopra di 50°: un glutine che dia una dilatazione di 28° si può considerare scadente ed incapace di dare un buon pane.

#### COMPOSIZIONE DELLE FARINE DI VARI CEREALI.

TAB. 59.

Provenienza e qualità	Umidità	In 100 di sostanza secca					
		Ceneri	Sostanze azotate	Grasso	Amido	Cellulosa	Zucchero e destrina
<b>Farine provenienti da grano della campagna romana (S. Camilla).</b>							
Marca 0 . . .	11.870	0.348	11.426	0.839	85.580	—	1.656
° 1 . . .	12.040	0.357	12.297	0.977	84.592	—	1.774
° 2 . . .	11.905	0.434	12.838	1.205	83.328	0.057	2.154
° 3 . . .	13.791	0.597	13.858	1.610	81.277	0.255	2.413
° 4 . . .	12.902	0.996	16.212	2.440	76.657	0.460	3.238
° 5 . . .	11.190	2.006	17.377	3.031	72.872	0.776	3.943

## COMPOSIZIONE DELLE FARINE DI VARI CEREALI.

TAB. 60

Provenienza e qualità	Umidità	In 100 parti di sostanza secca					
		Generi	Sostanze azotate	Grasso	Amido	Cellulosa	Zucchero e destrina
<b>Segale.</b>							
Farina extra . . . . .	13.38	0.52	3.81	0.45	93.46	0.09	—
• bianca . . . . .	13.04	0.80	6.13	1.14	88.80	0.41	—
• secca . . . . .	12.32	2.11	12.87	2.65	77.23	1.37	—
<b>Orzo.</b>							
Farina dall'orzo decort. . . . .	6.26	2.18	11.77	2.66	74.53	1.60	—
Farina dai semolini . . . . .	14.83	0.59	11.38	1.53	61.59	0.45	4.92
<b>Avena.</b>							
Farina dall'avena decort. . . . .							
americana . . . . .	12.11	2.03	13.37	7.68	63.37	1.30	—
tedesca. . . . .	12.11	1.59	13.33	5.53	62.94	4.14	—
<b>Riso.</b>							
Farina di riso finissima . . . . .	12.82	0.66	7.93	0.76	90.39	0.20	—
<b>Granturco.</b>							
Farina 1 <sup>a</sup> qualità (Italia). . . . .	14.21	1.33	9.65	3.80	62.79	1.46	6.76
• 2 <sup>a</sup> • . . . . .	13.60	1.94	8.32	4.88	65.30	6.36	—
Farina macinata col sistema Sheppard. . . . .	—	0.61	13.43	1.32	64.97	0.39	21.61
<b>Patate.</b>							
Farina . . . . .	17.18	0.96	1.03	—	80.83	—	—

**Sofisticazioni delle farine.**

Le farine possono essere sofisticate: o facendo loro assorbire una quantità di acqua superiore alla media stabilita dai regolamenti locali; o mescolando ad esse sostanze minerali, farine di

legno, farine di altri cereali di minor valore, farine di tuberi; oppure aggiungendo certe sostanze minerali capaci di dare un aspetto migliore alle farine di qualità più scadenti e di farle meglio panificare.

### Umidità.

L'umidità delle farine si determina nel modo detto dianzi. Si riterrà naturalmente umida una farina che dia una perdita, per essiccazione, di 12 o, al massimo, 13 %.

### Sostanze minerali.

Le sostanze minerali, che più comunemente si aggiungono alle farine, sono: *gesso, magnesite, spato pesante, caolino, carbonato di calcio*, ecc. Per riconoscere l'aggiunta di una di codeste sostanze basterà determinare la quantità delle ceneri, la quale non dovrà mai essere superiore a 2 gr. su 100 di farina secca.

Quando si voglia però usare un metodo sbrigativo, si ricorrerà a quello di Cailletet. Il quale consiste nell'agitare in un tubo da saggio 2 o 4 gr. di farina con 30 o 40 cme. di cloroformio, a cui si aggiungono 40 o 50 gocce di acqua. Si lascia in riposo per qualche ora, e se la farina abbia ricevuto sostanze minerali estranee, nel fondo del tubo si dovrà vedere un deposito bianco pesante, il quale non potrà esser dato dalla farina perchè essa ha un peso specifico minore del cloroformio e quindi galleggia e nemmeno potrà esser dato dalle sostanze minerali, naturalmente contenute nelle farine, perchè sono compenstrate nelle sostanze organiche e formano con esse un insieme inseparabile.

Le sostanze minerali su nominate, si aggiungono alle farine nella quantità di 2 a 5 % coll'unico scopo di sostituire altrettanta farina e conseguire guadagni più lanti.

### Farine di legno.

Le farine di legno sono state impiegate, in origine, per aspergere la pasta esternamente, affinchè non si attacchi e per mettere i pani al forno; oggi invece serve per sofisticare le farine.

Esse si ottengono polverizzando il legno, oppure polverizzando i cascami della fabbricazione dell'avorio vegetale. Bulland ha dato di cotesto due farine la composizione seguente:

	Farina di legno		Farina Corossos (1)
Acqua . . . . .	9,81	8,70	10,40
Sostanze azotate . . . . .	1,17	1,17	4,02
Grasso . . . . .	0,95	0,40	0,15
Sostanze non azot. e cel- lulosa saccarificabile . . . . .	41,88	53,78	79,18
Cellulosa non saccarifi- cabile . . . . .	45,30	34,25	5,05
Ceneri . . . . .	0,90	1,70	1,20

(1) Il corozo o avorio vegetale proviene dai semi di un albero della famiglia delle palme, che cresce nell'America del Sud. L'industria ne fabbrica molti oggetti ed i residui, venduti a basso prezzo, sono utilizzati per sofisticare le farine e la polvere d'ossa.

Per scoprire la polvere di legno si inumidisce la farina sospetta con soluzione alcoolica 0,1 % di floroglucina, e si acidifica con acido solforico 50 °; si riscalda leggermente e si osserva, se si formino delle zone o dei punti colorati intensamente in rosso carminio. La cellulosa della farina, col reattivo ora detto, non si colora che dopo un certo tempo (Le Roy).

Per scoprire la farina Corossos, basterà far bollire con acqua la farina ed essa si colorerà in rosso mantenendo intatta la forma dei piccoli granuli.

### Allume.

L'allume si aggiunge alle farine collo scopo di mascherarne le avarie, oppure collo scopo di far meglio panificare certe farine di qualità scadenti o provenienti da grani scadenti. Inoltre l'allume si aggiunge per fare assorbire alle farine una quantità maggiore di acqua, circa 6,5 °, più di quella che potrebbe assorbire ordinariamente e per fare acquistare alla pasta una bianchezza superiore a quella pertinente alla qualità della farina. Si aggiunge sempre in quantità piccola, 0,1 °, circa, altrimenti darebbe al pane un sapore stitico disgustoso.

Per ricreare l'allume nelle farine si opera nel modo suggerito da Herz. Si impasta la farina, in un tubo da saggio, con un po' di acqua e di alcool e l'impasto si unisce con alcune gocce di tintura di legno di campeggio, preparata di recente (1). Il tubo si riempie con soluzione di cloruro di sodio e, se la farina contenga da 0,5 a 0,10 ° di allume, la soluzione chiara piglia una colorazione bleu resistente, se ne contenga solo 0,01 ° piglia una colorazione viola. Si può, per maggiore sicurezza, confrontare la colorazione ottenuta con farine che contengano 0,01, 0,05 e 0,10 ° di allume.

### Solfato di rame.

Il solfato di rame si aggiunge alle farine: 1° perchè favorisce la fermentazione alcoolica e permette alle farine, che hanno un glutine poco tenace, di levar bene e di dare un pane spugnoso; 2° perchè fa assorbire alla pasta una quantità di acqua maggiore di 7,5 ° di quella ordinaria (Bruylants).

Il rame si ricerca nel modo seguente: Si incinerano 200 o 300 gr. di farina; le ceneri si sciolgono in acido cloridrico; la soluzione si evapora a secchezza ed il residuo si riprende con acqua leggermente acidulata con acido cloridrico. Si sottopone cotesta soluzione all'azione dell'idrogeno solforato; il rame si separa in forma di solfuro, il quale si raccoglie, si lava, si scioglie in acido nitrico e la soluzione si tratta coi varii reattivi generali per constatare la presenza del rame.

Più semplicemente, il rame si ricerca nelle farine nel modo seguente: Si liscivano a freddo 100 o 200 gr. di farina con acqua acidulata con acido solforico. L'acqua di liscivazione, filtrata, si concentra a bagnomaria, si neutralizza perfettamente l'acido, e si unisce con alcuni pezzetti di acido

(1) La tintura si prepara mettendo 5 gr. di legno di campeggio in 100 emc. di alcool 96 %.

stearico o meglio di stearina, seguitando a riscaldare fino a fusione completa. Si agita un pochino con una bacchetta di vetro e si lascia raffreddare. Gli acidi grassi, che hanno un'affinità grandissima per il rame, si combineranno ad esso ed appariranno, dopo solidificati, invece che bianchi, più o meno colorati in verde, a seconda della quantità di rame aggiunto alle farine.

Berehe ha dimostrato che nelle farine vi possono pervenire, per varie ragioni, piccole quantità di rame, da 8,2 a 10,8 milionesimi di grammo per cento.

### Solfato di zinco.

Il solfato di zinco si aggiunge alle farine in sostituzione del solfato di rame. Per ricercare lo zinco, si incinera un determinato peso di farina; le ceneri si sciolgono in acido cloridrico e si opera, per il resto, come è stato detto per la ricerca dello zinco nell'acqua.

### Farine di vecchie o di leguminose.

Le farine di leguminose si mescolano nella quantità del 3 al 5 % alle farine di qualità bassa, collo scopo di frodare. Però spessissimo nelle stesse farine si possono trovare le vecchie che vi pervengono per imperfetta mondanatura del grano.

Le vecchie si possono scoprire nelle farine nel modo indicato da Vogl. Si agitano, cioè, in un tubo da saggio 2 gr. di farina sospetta con 10 cme. di alcool 70 %, contenente 5 % di acido cloridrico; si riscalda a bagnomaria la mescolanza e si osserva la colorazione che assume. Se il liquido sia scolorato, la farina è di puro frumento, se invece è colorato in rosa o rosso-porpora, contiene vecchie. Questa reazione però è poco sensibile ed è meglio, per la ricerca delle vecchie, di ricorrere all'esame microscopico.

### Alterazione delle farine.

Le alterazioni delle farine possono essere limitate alle alterazioni naturali (ammuffimento) oppure alle alterazioni prodotte da semi stranieri nocivi, contenuti nel grano e non tolti nella pulitura (loglio, agrostemma, segala cornuta, melampiro, ecc.).

**AMMUFFIMENTO.** — L'alterazione, che va sotto questo nome, non è soltanto prodotta dalle muffe, ma da un insieme di microrganismi che si trovano nelle farine, e che, sviluppandosi, col favore della umidità ne alterano in modo i componenti, da modificare in tutto od in parte le loro proprietà.

Per constatare cotesta alterazione, si ricorre prima ai saggi organolettici, poi alle proprietà del glutine, quando si tratti di farina di frumento.

Una farina sana e fresca ha un odore caratteristico ed un sapore dolce; una farina alterata, invece, un odore di muffa ed un sapore irritante ed amaro.

Gawalowsky, per apprezzar meglio l'odore della farina, consiglia di operare nel modo seguente. In un tubo da saggio si mette un grammo di farina e si tratta con 4 o 5 cmc. di potassa concentrata: la pasta formatasi si fa poi liquefare a blando calore (30° C.) e si tratta con acido solforico diluito 1:2. Se la farina sia alterata si manifesta un odore spiacevole e caratteristico; se sana, un odore simile a quello del brodo.

Il glutine nelle farine alterate, si raccoglie con difficoltà e quello raccolto è scuro, poco tenace, flaccido, poco elastico, con odore disgustoso e con sapore amaro.

Inoltre, nelle alterazioni naturali delle farine, le sostanze grasse sono rapidamente trasformate od utilizzate dai microrganismi; dimodochè ad un certo punto le farine conteranno una piccolissima quantità di sostanze solubili nell'etere. Se si determinano perciò le ceneri, come sostanze invariabili e le sostanze grasse come variabili, e si dividano queste per quelle, si dovrà avere un rapporto che diminuisce costantemente mano mano che aumenta l'alterazione delle farine. Si è visto che nelle farine sane di frumento di 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> qualità il rapporto grasso: ceneri totali è raramente inferiore a 2, nelle farine di 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> qualità a 1,50 e nelle farine di granturco a 3. Perciò, se i caratteri organolettici e le proprietà del glutine diano indicazioni in favore di una alterazione e se il rapporto su detto sia inferiore a 2, 1,50 o 3 si può sicuramente concludere che la farina è alterata o guasta.

Anche la prova d'impasto ci può dare qualche lume sulla alterazione, o meno di una farina, oppure sulla sua maggiore o minore capacità di dare buon pane. Tale prova si eseguisce nel modo seguente: 50 gr. di farina si mettono in un mortaio di porcellana piuttosto ampio e si impastano con 25 cmc. di acqua: le farine sane, che contengono un glutine molto idratabile e perciò molto buono, danno pasta dura e tenace; le farine alterate o scadenti, che contengono un glutine poco idratabile e perciò poco buono od alterato, danno una pasta molle, appiccaticcia ed incoerente (Halenke e Müslinger; Schmid e Rüttimann).

AMMUFFIMENTO DEL GRANTURCO O DELLA FARINA. — Tanto il chicco del granturco, quanto le farine sono molto soggetti ad ammuffire; onde essi divengono nocivi e sono forse capaci di produrre la pellagra.

Di Pietro, esaminando accuratamente molti penicilli, di quelli che attecchiscono sul granturco, ha visto che solo una forma spore contenenti un veleno potentissimo ed al quale egli assegna grandissima importanza nella produzione della pellagra. Se ciò sia vero, decideranno gli studi successivi: interessa però conoscere fin d'ora se un granturco ammuffito od una farina contengano questo penicillo tossico, perchè, esso, anche supposto che non sia la causa della pellagra, può sempre arrecare disturbi non piccoli.

Per far ciò, Di Pietro è ricorso ad un mezzo semplicissimo, con il quale, evitando l'estrazione del veleno e l'esperienza nell'animale, scopre, con sicurezza, il penicillo tossico. Ha approfittato della proprietà che ha cotesto penicillo, ed esso soltanto, di produrre una sostanza, specie di fenolo, capace di reagire col percloruro di ferro in verde. La reazione si eseguisce nel modo seguente:

25 o 50 cariossidi di granturco ammuffite o 100 gm. di farina, si mettono in un palloncino con poca soluzione acquosa di potassa caustica 2 % e si riscalda all'ebollizione. Poi si acidifica fortemente la massa con acido solforico e si fa bollire ancora per qualche secondo: si fa freddare e si aggiunge etere di petrolio o benzina commerciale e si dibatte fortemente. Si lascia in riposo per qualche minuto, affine di far separare i due liquidi, e si decanta la benzina in una grossa provetta. Si aggiungono a questa 2 o 3 c. c. di un reattivo, preparato mescolando 50 c. c. di alcool, 1,5 c. c. di acido cloridrico commerciale e gm. 0,5 di cloruro ferrico e si dibatte fortemente. Il liquido reattivo, che, dopo poco tempo di riposo, si separa e va a fondo della provetta, acquista una colorazione verde erba, se nel granturco o nella farina si fosse trovato il penicillo tossico.

Il granturco sano o la farina sana, oppure il granturco o la farina ammuffita, che non contengono il penicillo tossico, non danno reazione alcuna.

### Loglio.

Il loglio si ricerca nelle farine col processo di Ruspini. Si tratta, cioè, la farina sospetta con alcool 84 % e si filtra: in presenza di loglio, l'alcool piglia una tinta verdastro, che si fa più carica col tempo, ed un sapore astringente e nauseante. Per evaporazione dell'alcool, si ottiene un residuo verdastro che possiede le proprietà tossiche del loglio.

### Agrostemma.

L'agrostemma nelle farine di frumento si ricerca nel modo seguente:

20 gr. di farina si sgrassano con etere di petrolio in apparecchio di Soxhlet, e si estraggono poi a caldo con 80 gr. di cloroformio e 20 gr. di alcool. Il liquido si filtra a caldo o in un imbuto riscaldato, oppure rapidamente, servendosi di una pompa ad acqua ed il filtrato si evapora in bagnomaria. La farina di puro frumento lascia una piccola quantità d'una sostanza, debolmente gialla; la farina contenente agrostemma, lascia un residuo un po' più abbondante. Questo residuo si riprende con poca acqua calda; la soluzione si filtra e di nuovo si evapora fino a secchezza. Il residuo si tratta con alcune gocce di acido solforico concentrato e, se la farina è pura, non si colorerà affatto, nemmeno dopo due ore, se contiene agrostemma si colorerà prima in giallo, poi in rosso bruno. Con questo metodo si può scoprire 1 % di agrostemma nelle farine di frumento ed anche minor quantità nel caso che, invece di 20 gr. di farina, si usino maggiori quantità.

Questa reazione è dovuta alla sapotossina contenuta nel seme dell'agrostemma (Medicus e Kober).

### Segala cornuta.

Per ricercare la segala cornuta il metodo più sensibile è quello Pratesi-Di Vestea. Si distende la farina su di un piatto, vi si spruzza il liquido di Vogl (100 di alcool a 70 % e 5 di acido cloridrico) e si riscalda a 30° o 40°. Se la farina contenga segala cornuta compariranno dei punticini di un rosso



vinoso, i quali potranno esser presi ed esaminati al microscopio. Se poi si aggiunga nel vetrino un po' di potassa, l'amido scompare, la crusca diviene verde, la segala piglia un bel colorito viola.

La segala cornuta si può scoprire anche seguendo il procedimento proposto da Hoffmann. 10 gr. di farina si trattano con 20 cmc. di etere, 10 gocce di acido solforico diluito 1:5, si dibatte e si lascia tutto in riposo per 5 o 6 ore. Si filtra e si lava con etere fino a 20 cmc.: il filtrato eterico si dibatte fortemente con 10 gocce di una soluzione satura a freddo di bicarbonato di sodio. In presenza di segala cornuta, la soluzione di bicarbonato di sodio acquista una colorazione violetta.

Questa reazione, dovuta alla materia colorante contenuta nella segala, è comune all'agrostemma, poichè anche nella corteccia di questo seme vi è una materia colorante che, se non è identica, è molto simile a quella della segala (Medicus e Kober).

Con questo metodo si può scoprire una quantità di segala di 0,1 " , secondo Hoffmann, di 1 a 2 " , secondo Stagnitta.

## Leguminose.

Le leguminose raramente s'impiegano come farine, essendo esse consumate intere come minestra. Hanno un potere nutritivo molto elevato e, con ragione, sono chiamate la carne del povero.

### COMPOSIZIONE DELLE FARINE DI LEGUMINOSE.

TAB. 61.

Qualità	Acqua	Sostanze azotate	Grasso	Amido	Sostanze legnose	Generi
Farina di fagioli . . . . .	40.29	23.19	2.13	59.37	1.67	3.35
• di piselli . . . . .	41.44	25.20	4.01	57.17	1.32	2.89
• di lenticchie . . . . .	10.73	25.46	4.83	57.35	2.04	2.62
• di soja . . . . .	40.23	25.69	15.83	38.42	2.75	4.36

## Pane.

Il pane è il principale prodotto di trasformazione delle farine: è l'alimento più omogeneo e più confacente all'uomo.

Esso si prepara nel modo seguente: Il lievito, che proviene dall'impasto precedente, si stempera con acqua tiepida contenente il  $\frac{1}{2}$  o l'1 " di sale e si versa, poco per volta, nella massa di farina, sufficiente per una infornata, incorporandolo con

un rimescolamento fatto, il più delle volte, a mano, oppure con mezzi meccanici. In tal modo, si forma la pasta, la quale si maneggia e rimaneggia fino a che abbia acquistata la finezza e l'omogeneità voluta. Allora se ne toglie un pezzo, che si mette in serbo e che dovrà essere il lievito per l'impasto successivo, e tutta la massa si lascia in riposo per farla lievitare. Quando la lievitatura è arrivata al punto preciso, si divide la pasta in pezzi, i quali, foggiate convenientemente, si dispongono su di una tavola cosparsa di cruschello, ove si fanno lievitare ancora, e si mettono in forno, per la cottura, ad una temperatura di 250° a 300°.

### Lievito.

Il lievito mescolato alla pasta è capace di farla levare, e di dare un pane spugnoso e leggero. Molto tempo si è discusso sulla natura di codesto fermento e sulla maggiore o minore importanza dei vari microrganismi in esso riscontrati. Boutroux (1), ha dimostrato che il vero agente, nel lievito è un saccaromiceto, il quale può essere trapiantato di pasta in pasta indefinitamente senza perdere le sue proprietà e che quei batteri, che pure sono capaci di far gonfiare il pane, al terzo trapianto muoiono tutti. Inoltre ha dimostrato che tutti i batterii, che sono stati riscontrati nel lievito, hanno, nella fermentazione panaria, una importanza negativa, perchè attaccano il glutine, lo alterano e ne diminuiscono la sua elasticità.

Ammesso questo, la fermentazione panaria si riduce una semplice fermentazione alcoolica, nella quale, a spese dello zucchero, preesistente nelle farine, si forma alcool ed acido carbonico e successivamente, per la dilatazione di questo gas, le numerose celle nel pane.

Il lievito ha nella panificazione una importanza grandissima, perchè da esso dipende la maggiore o minore digeribilità del pane. Nelle panetterie delle grandi città, ove si impiegano lieviti sempre freschi ed abbondanti, si fabbricano pani spugnosi e molto levati, ma nelle campagne, ove si adoperano lieviti vecchi di una settimana o più, in quantità scarsa, si fabbricano pani duri e pesanti. Nelle famiglie, diceva il Figuier tant'anni sono per la Francia, ma che si può ripetere oggi per l'Italia, « al lievito si bada troppo poco. Non si fa altro che prendere un pezzo della pasta dell'ultima infornata, ed abbandonarlo nella madia per una settimana almeno. In questo frattempo la pasta diviene acida,

(1) *Le pain et la panification*. — Paris, 1897.

si altera profondamente ed il fermento si indebolisce ». Per rimediare a questo inconveniente, bisogna rinfrescare il lievito tre o quattro volte la settimana, stemperandolo in acqua e farina e raddoppiandone ogni volta il volume, dimodochè non solo si avrà un lievito più attivo, ma anche più abbondante per la infornata susseguente.

Le trasformazioni che subisce la farina nella panificazione sono:

- 1° perdita di carbonio corrispondente ad 1 ‰ di acido carbonico;
- 2° formazione e perdita di piccola quantità di acidi volatili;
- 3° produzione di 1 ‰ di alcool durante la impastatura e la lievitatura;
- 4° aumento di acidità;
- 5° perdita piccolissima e quasi trascurabile di azoto;
- 6° perdita della metà circa delle sostanze grasse. (Snyder e Voorher).

### Diverse qualità di pane.

Il pane nelle grandi panetterie, si distingue in varie qualità, a seconda del modo di preparazione ed a seconda della finezza delle farine impiegate. Così, per il modo di preparazione, si distingue: in pane di pasta *dura*, *bastarda* e *molle*; per la qualità delle farine, in pani di 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> qualità.

I pani di pasta dura sono comunemente usati in Liguria, ed in Lombardia, i pani di pasta bastarda sono i più diffusi ed usati per tutta Italia; i pani di pasta molle, ai quali si dà anche il nome di *parigini*, sono usati solo nelle grandi città e sono i più leggeri e spugnosi di quanti altri si conoscano.

Oggi è divenuto di uso comune anche da noi il pane detto *completo*, il quale si prepara con farine contenenti tutto il cruschetto ed abburattate al 10 ‰ all'incirca. Il pane *casareccio* si può anche chiamare *completo*, perchè essendo esso un pane economico e preparato nelle campagne con farine abburattate nella casa stessa, contiene tutto il cruschetto che può passare attraverso le maglie del setaccio che, nella maggioranza dei casi, non è dei più fini.

I pani di lusso: *chiffel*, *semmel*, *panini di Vienna*, *grissini*, ecc., sono usati limitatamente e non hanno perciò importanza nell'alimentazione generale.

CAUSE CHE PRODUCONO IL COLORE BRUNO DEL PANE. — Il pane fatto colle farine di prima qualità è bianco, mentre il pane fatto colle farine di qualità più bassa è bigio o scuro. Cotesto colore, non è dato dalle sole cortecce o tritelli in esso contenute, ma da una diastasi che Mège-Mouriciès ha

chiamato *cerealina* e che risiede specialmente nella crusca. Cotesta diastasi sarebbe dotata di proprietà multiple, tra le quali quella di decomporre il glutine, producendo ammoniacca ed una materia bruna e di trasformare la materia estrattiva in una sostanza bruna analoga all'acido ulmico.

Boutroux, che ha studiato accuratamente il meccanismo delle reazioni che avvengono per opera della diastasi scoperta da Mège-Mouriés, ha trovato che l'annerimento dell'estratto acquoso di crusca si produce all'aria nell'identico modo di quello che avviene per la lacca. Tale estratto contiene una sostanza ossidabile che da sola non è affatto attaccata dall'ossigeno libero, e contiene una sostanza azotata, coagulabile col calore, precipitabile con alcool, che, aggiunta alla prima, rende quella capace di essere attaccata dall'ossigeno dell'aria. Questa sostanza, come la laccasi, isolata da Bertrand, può provocare la ossidazione dell'idrochinone in soluzione acquosa, colla produzione di una colorazione rosso bruna, che aumenta lentamente fino alla opacità completa. A questa sostanza Boutroux ha dato il nome di *oxidina* ed ha potuto isolarla, filtrando l'estratto acquoso di crusca per candela di porcellana e precipitando con alcool, mentre non è riuscito ad isolare la sostanza ossidabile e che pure si trova nell'estratto della crusca.

Quindi, il color bruno del pane sarebbe prodotto dalla formazione di una materia colorante bruna, risultante dall'azione dell'ossigeno dell'aria sulle parti solubili della crusca, azione che si manifesta quando la crusca non è passata ancora attraverso la fermentazione panaria, vale a dire durante il periodo d'incubazione dei fermenti del lievito. Perciò il pane sarà tanto più bigio quanto più sarà lenta la fermentazione e quanto minore sarà l'acidità, poichè questa è una protezione contro l'annerimento.

Il colorito bruno inoltre aumenta durante la cottura e ciò specialmente per la liquefazione parziale dell'amido, prodotta dall'*amilasi*, ossia per un fatto puramente meccanico, o per un cambiamento di struttura.

### Composizione del pane.

Il pane ha la stessa composizione delle farine da cui proviene: solo differisce da queste per una maggiore quantità di acqua, per una profonda modificazione del glutine, per una parziale idratazione dell'amido e per una quantità maggiore di sostanze solubili nell'acqua e per una quantità minore di grasso.

ANALISI CHIMICA DEL PANE. — L'analisi chimica del pane comprende tutte le determinazioni di cui abbiamo parlato nelle farine: cioè determinazione dell'acqua, delle ceneri, delle sostanze azotate, del grasso, delle sostanze legnose e dell'amido.

#### Acqua.

Per la determinazione dell'acqua non devono essere impiegati meno di 10 gr. di pane ed il campione deve essere preso, in modo da rappresentare proporzionalmente, nel modo più perfetto possibile, la quantità di crosta

e di mollica che esistono nel pane intero. Poichè tanto nell' una che nell'altra la quantità di acqua è molto diversa e può oscillare entro i limiti seguenti:

Acqua  $^{\circ}$  / nella mollica da 40 a 47  
 / nella crosta da 16 a 27

e quindi nel pane si può trovare una quantità media di acqua che oscilla tra 30 e 40  $^{\circ}$ . Come media, per i pani di 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> qualità e di taglio piccolo si può accettare il 30  $^{\circ}$ ; per i pani di 3<sup>a</sup> qualità e di taglio piccolo il 35  $^{\circ}$ . Per i pani di grosso taglio si potrà accettare anche il 38 od il 40  $^{\circ}$ .

### COMPOSIZIONE MEDIA DI ALCUNE QUALITÀ DI PANE.

TAB. 62.

Qualità del pane	Umidità $^{\circ}$ /	Sostanze azotate $^{\circ}$ /	Grasso $^{\circ}$ /	Zucchero $^{\circ}$ /	Amido $^{\circ}$ /	Sostanze legnose $^{\circ}$ /	Ceneri $^{\circ}$ /
Pane fino di frumento . . .	35.59	7.06	0.46	4.02	52.56	0.32	1.09
Pane ordinario di frum. . . .	40.45	6.15	0.44	2.08	49.04	0.62	1.22
Pane di segale . . . . .	42.27	6.11	0.43	2.34	46.94	0.49	1.46
Pane di segale ordinario. . .	43.42	7.59	4.51	3.25	41.87	0.94	1.42
Pane di avena . . . . .	43.04	8.39	6.03	4.09	60.12	5.58	3.05
Pane di orzo . . . . .	42.44	9.33	4.09	4.66	64.40	4.29	3.79

Il pane di segale è meno nutritivo del pane di frumento, perchè è meno assimilabile.

Nella nutrizione con pane di segale si emettono più feci e più sostanze azotate che con pane di frumento.

### Sofisticazione del pane.

#### Acqua.

La più comune sofisticazione che si pratica sul pane è la conservazione in esso della maggiore quantità possibile di acqua, sia asciugandolo poco nel forno, sia aggiungendo sal comune od altro.

Per giudicare se vi sia eccesso di acqua in un pane, è necessario tener conto della forma, del peso del pane e del tempo trascorso dalla sfornatura; poichè la quantità di acqua varia moltissimo col variare di coteste condizioni. Per la qual cosa, nei regolamenti locali di igiene si stabiliscono generalmente le quantità massime di acqua tollerabili nei pani piccoli, nei mezzani e nei grandi.

### Sostanze minerali.

Le aggiunte fraudolenti di sostanze minerali si scoprono determinando le ceneri. Queste non dovranno essere superiori a 2 gr.  $\frac{0}{100}$  astrazione fatta del cloruro di sodio.

#### Allume.

L'allume si scopre nel pane nel modo seguente: Si prepara una tintura di legno di campeggio, facendone digerire 5 gr con 100 cme. di alcool metilico, e da un'altra parte si prepara una soluzione satura di carbonato di ammonio.

Nel momento di procedere al saggio, si mescolano 5 cme. di tintura con 5 cme. di soluzione di carbonato d'ammonio e si aggiunge acqua distillata fino ad arrivare al volume di 100. Tutto questo miscuglio si versa su 10 gr. di pane, spezzato e contenuto in una capsula di porcellana: dopo 5 minuti si fa scolare il liquido non assorbito, si lava leggermente il pane e si disicca in stufa a 100° C.

Il pane contenente allume prende, in queste condizioni, un colore viola o blu scuro a seconda della quantità di allume in esso contenuto. Il pane che non contiene allume, piglia una tinta leggermente rossastra che a poco a poco passa al bruno.

È consigliabile sempre di fare un saggio comparativo con pane non contenente allume. Meglio è usare per questa ricerca una soluzione alcoolica di alizarina 1  $\frac{0}{100}$  colla quale inumidendo il pane contenente 0,05-0,10  $\frac{0}{100}$  di allume, si ha una colorazione rossa sensibile (Grimaldi Siro).

#### Solfato di rame e solfato di zinco.

Il rame e lo zinco si ricercano nelle ceneri del pane nel modo detto per le farine.

#### Farine di altri cereali.

Le farine di cereali inferiori si scoprono coll'esame microscopico, sebbene con grande difficoltà.

### Alterazioni del pane.

Il pane può essere alterato, prima perchè fabbricato con farine alterate o guaste, poi perchè può contenere farine di semi stranieri nocivi.

Per conoscere se il pane sia stato fabbricato con farine guaste, si deve tener conto, prima di ogni altro, dei caratteri organolettici e dei caratteri fisici. In questo caso il pane non sarà ben levato e spugnoso, poichè il glutine alterato perde la sua tenacità ed elasticità; l'odore ed il sapore saranno piuttosto disgustosi e ricorderanno quelli della muffa.

Girard consiglia di estrarre il glutine anche dal pane e di sperimentarne le proprietà. Si opera nel modo seguente: 50 gr. di pane sospetto si trituranò in un mortaio di porcellana e si mescolano intimamente ad una soluzione di diastasi, ottenuta facendo macerare 500 gr. d'orzo germuogliato e polverizzato in poca acqua. La mescolanza si tiene ad una temperatura di 70° per quattro o cinque ore, affinchè si disciolga tutto l'amido, poi si filtra e nel filtro si raccoglie il glutine che solo è rimasto indisciolto. Si lava con acqua e si esamina, comparandolo con un glutine, ottenuto nell'identico modo, da un pane fabbricato con una farina sanissima. Se il pane sia stato preparato con farine guaste, il glutine è molle e viscoso.

Per ricercare le farine di semi nocivi, si polverizza finamente il pane e nella polvere si praticano tutte le reazioni descritte per le farine. La decisione definitiva dovrò essere presa in base ai risultati dell'esame microscopico.

### Paste da minestra.

L'arte di far paste serbevoli, di forme varie ed eleganti ebbe origine nel mezzogiorno d'Italia dalla consuetudine casalinga di far minestra giornalmente impastando farina, acqua ed uova. Ma il popolo che non poteva permettersi il lusso di queste ultime, impastava, come impasta ancor oggi, solo farina ed acqua ed otteneva, grazie ai suoi grani ricchi di glutine, paste egualmente tenaci e resistenti alla cottura. La qual cosa fece nascere nell'animo di qualche ardimentoso il desiderio di preparare, in eotal modo, paste secche e venderle, forse in principio, colla falsa assicurazione che esse fossero preparate con uova, allo scopo di attirare l'attenzione del pubblico e guadagnarne il favore. Il quale certamente non mancò; poichè cotesta arte crebbe, si perfezionò e si sviluppò tanto da destare l'ammirazione e la compiacenza anche degli stranieri. E difatti, nel principio del secolo passato, la Francia incominciò a fabbricare le stesse paste, che digià aveva importate abbondantemente, dando loro il nome di *paste d'Italia*, e dette a tale fabbricazione un impulso così grande, per le applicazioni della meccanica e del vapore, da gareggiare colla patria d'origine ed anche da sorpassarla. Ma l'Italia non si arrestò; assimilò a sua volta dalla Francia le nuove applicazioni, le perfezionò, le ampliò ed oggi l'industria delle paste è divenuta da noi florida e ricca, sorretta sempre dalla fiducia crescente del pubblico.

### Preparazione delle paste.

I grani duri del mezzogiorno d'Italia un tempo furono famosi, per la fabbricazione delle paste, e furono ricercatissimi. Oggi essi mantengono eguale fama, ma non sono più sufficienti ai bisogni

della industria, cresciuta ed allargata oltremodo, e si devono importare dalla Russia, dagli Stati Balcanici e dall'Asia. I detti grani prima si puliscono con mezzi meccanici, poi si sottopongono alla macinazione graduale, col sistema ungherese, ed i semolini ottenuti si abburattano con apparecchi perfezionati e si tolgono loro tutte le parti corticali e si separano dalla poca farina che costantemente si forma nella detta macinazione. A seconda della finezza e dell'abburattatura più o meno perfetta, i semolini sono graduati in commercio con numeri e con lettere, che variano però da fabbricante a fabbricante. Le diverse qualità di semolini servono per fare le paste di primissima, prima e seconda qualità; la terza qualità è fatta, in generale, colla farina di grano duro, detta anche serragolla o serragoletta, che, come abbiamo visto, rappresenta un cascame della preparazione dei semolini. Del resto, ogni fabbricante può fare mescolanze delle varie qualità di semolini, ovvero di semolini colla farina di grano duro e può ottenere paste di tipo speciale a cui assegna nomi e numeri speciali. Si può dire però che la qualità della pasta sia determinata, in generale, dalla bianchezza che essa presenta.

La fabbricazione delle paste comprende tre operazioni diverse: *impasto, stendimento e modellatura.*

*Impasto.* — L'impasto dei semolini si faceva, in origine, a mano, mescolandoli con acqua calda, in proporzione determinata, nel tempo più breve possibile per non far freddare la massa. Si completava l'impasto per mezzo della sbarra, detta di salto, mettendo, cioè, la pasta rudemente ammassata in una madia ove era fissata una sbarra, lunga 4 metri circa, piana per un metro e rotonda per il resto. La pasta si adattava sotto la parte piana della sbarra, ed un operaio all'estremità di essa col proprio peso e saltando la pestava vigorosamente. Oggi però servono molto meglio gli impastatori meccanici.

*Stendimento.* — Quando si vede che la pasta ha preso un aspetto quasi uniforme, si distende in fogli, ovvero si lamina per renderla più omogenea che è possibile.

Lo stendimento o la laminatura si fa servendosi di una grossa ruota dentata di ghisa, la quale si muove, in senso verticale, sopra un piano di legno sostenuto da una solida muratura e mercè un albero verticale mosso dal vapore oppure da forza animale. La pasta si dispone sulla tavola di legno e si ricopre con un grande foglio di lamiera, sulla quale passa la ruota, che, per l'enorme peso, schiaccia la pasta e la distende in modo da renderla non più spessa di 4 o 5 centesimi di millimetro. I fogli di pasta si ripiegano poi



e si sottopongono ad una nuova laminatura e così di seguito fino a che essa abbia acquistato il grado di finezza voluto. Oggi lo stendimento e l'affinatura della pasta si fa più semplicemente, con due grossi cilindri di acciaio o di granito combacianti, ai quali, per mezzo del vapore, è impresso un lento movimento di rotazione. La pasta, messa tra i due cilindri, è costretta a muoversi, per effetto della rotazione, mentre sopporta una grande pressione. Con questi apparecchi, non è necessario che la pasta acquisti una grande sottigliezza, purchè le cilindrate siano ripetute fino a che la massa abbia acquistata omogeneità e finezza.

*Modellatura.* — La modellatura della pasta si fa per mezzo di torchi che agiscono in senso verticale oppure orizzontale e, cioè, per le paste lunghe, come maccheroni, vermicelli, ecc., sono necessari i torchi verticali, per le paste minute, come stellette, peperini, rosari, ecc. si adoperano i torchi orizzontali. Ambedue questi torchi hanno la stessa disposizione delle parti; la sola differenza è data dalla posizione. Il torchio verticale è costituito di due solide colonne di ferro fissate nel terreno e intramezzate e sormontate da due grossi massi di ghisa, il superiore dei quali, detto cappello, ha un foro centrale a vite, l'inferiore ha pure un grosso foro centrale in cui si adatta un cilindro cavo di bronzo, detto campana. Questa porta nel fondo internamente un cornicione su cui posa la forma ed esternamente, per un quarto della sua lunghezza, a cominciare dalla base, è circondata da un secondo invoglio, indicato col nome di conchiglia. Entro questa campana può discendere, a sfregamento dolce, uno stantuffo massiccio di ghisa, il quale, nella sua parte superiore, termina con una grossa vite di ferro che si adatta alla madre vite del cappello e che è da questa governata. La vite è messa in moto da una ruota d'ingranaggio, collocata alla sua estremità inferiore, la quale obbedisce ad un rocchetto, mosso da un volante a mano, oppure dal vapore.

La forma è un disco di rame bucherellato, dello spessore di due centimetri circa. I fori pei maccheroni sono foggianti, nella parte superiore, ad imbuto; nel centro portano un'anima, fissata per un sol punto alla forma, e cotesta anima serve a modellare la pasta in forma di tubi. I fori per i vermicelli sono semplicemente rotondi, quelli invece per le paste minute hanno la forma di lettere, pesci, stelline, ecc.

Per la modellatura, si mette nella campana un rotolo di pasta del peso di 35 o 40 kg. circa, appena uscita dal laminatoio e si comprime facendo discendere lo stantuffo e facendo passare il vapore nell'interno della corona per tenere sempre calda la forma e

la pasta. La quale, costretta ad uscire lentamente per quei fori ne piglia la forma senza interruzione. Un operaio, per mezzo di una stecca sottilissima, rinnova i fili di pasta ch'è discendono, per non farli attaccare tra loro, oppure un getto di aria calda, spinta continuamente verso cotesti fili, compie il doppio ufficio di essiccarli esternamente e di muoverli. Quando la lunghezza dei fili uscenti è arrivata ad un punto determinato, un operaio, con una mano li abbraccia tutti, coll'altra, munita di un coltello, li taglia, disponendo i pezzi tagliati a cavallo sopra carne per farli essicare.

L'essiccazione di coteste paste non si fa rapidamente esponendole all'aria ed al sole, ma lentamente all'ombra ed intercalatamente in ambienti ad aria umida e ad aria secca, e ciò per evitare soprattutto che i maccheroni si spacchino e le altre paste si screpolino alla superficie e si contorciano, per ineguale e troppo rapido essiccamento.

Per modellare le paste minute, serve il torchio orizzontale, il quale è munito di un coltello piano che gira rapidamente sulla superficie esterna della forma e taglia la pasta formata appena uscita dai fori. Questa cade entro spanditoi di tela, ove è distesa in strati sottili ed ove si fa essicare convenientemente, usando le stesse precauzioni alle quali è stato accennato, parlando delle paste lunghe.

La pasta secca si conserva in cassette di mezzo quintale circa, e così viene messa in commercio e trasportata fino nell'America e nell'Australia senza subire alterazione di sorta.

### Analisi delle paste.

La presa del campione e l'analisi delle paste si fa nell'identico modo che è stato detto per il pane.

### Sofisticazioni ed alterazioni delle paste.

Anche le paste da minestra possono essere sofisticate con sostanze minerali e con farine di altri cereali; possono essere alterate per cattiva conservazione dei semolini e delle paste stesse e possono essere colorate con sostanze nocive.

Per le sofisticazioni con altre farine e per le alterazioni con semi stranieri, nocivi, valgono le stesse regole date per le farine e per il pane; per le alterazioni naturali è necessario, per ora affidarsi esclusivamente ai caratteri organolettici.

### Materie coloranti.

Le paste da minestra, generalmente, si mescolano con piccole quantità di materie coloranti gialle per dar loro l'aspetto delle paste preparate con uova. Per tale colorazione, s'impiegano oggi molti dei colori artificiali, che vanno sotto il nome generico di *aniline*, di alcuni dei quali, siccome nocivi, ci dobbiamo succintamente occupare (1).

Per estrarre dalle paste le materie coloranti, si opera nel modo proposto da Possetto:

In una capsula di porcellana, con fondo concavo, si mettono 10 o 20 gr. di pasta grossolanamente triturata, insieme a 100 o 150 cmc. di acqua acidulata con alcune gocce di acido cloridrico. Si scalda in bagnomaria e si immerge nella pappa, che si forma, un gomito di lana sgrassata bianca, la quale, in queste condizioni, fissa il colore giallo. Dopo pochi minuti, si estrae il gomito, si lava a grandi acque, per liberarlo dalle materie amidacee collificate e si immerge in un beker contenente acqua ammoniacale portata all'ebollizione. La tinta gialla passa rapidamente in soluzione, lasciando affatto scolorita la lana, la quale può servire ad una nuova estrazione del colore.

In cotai modo, con due gomitoletti di lana, che alternativamente vengono dapprima tinti, poscia decolorati, in meno di quindici minuti, si può ottenere in soluzione quasi tutta la materia colorante contenuta nella pasta adoperata.

Una metà della soluzione colorante si tiene in disparte, l'altra metà si fa bollire per cacciare l'eccesso di ammoniaca, si filtra ed il filtrato si acidifica con acido cloridrico e si tratta colla lana, nel modo detto di sopra, per fissare nuovamente il colore e per depurarlo ancora. Per la caratterizzazione del colore fissato dalla lana e fatto passare nuovamente in soluzione nell'acqua si terrà conto dei caratteri seguenti:

#### Giallo Martius o dinitronaftolo.

La soluzione neutra, mescolata con alcune gocce di soluzione concentrata di cianuro di potassio, e riscaldata blandamente a bagnomaria, passa al giallo sporco. La soluzione concentrata, trattata con acido cloridrico, dà un precipitato di un colore giallo verdastro; la soluzione diluita si decolora.

(1) Le materie coloranti riconosciute nocive sono: Gommagotta, Acido picrico, Giallo Vittoria, Giallo Martius, Giallo metanilico (Tropeolina G.), ecc. Le materie coloranti derivate da estratti riconosciute innocue sono: Crioidina, Tropeolina, Azoflavina, Rocellina, Ponceau, Bordeaux, Scarlatto di Biebrich, Giallo naftol solfonico.

COMPOSIZIONE DI ALCUNE PASTE DA MINESTRA.

TAB. 63.

Qualità	Unità	In cento parti di sostanza secca						Rapporto tra il grasso e le ceneri	Prezzo per chilogr.
		Ceneri solubili	Sostanze azotate	Sostanze azotate solubili	Acidità solubile in acido lattico	Grasso	Amido		
<b>Paste di frumento di 1ª qualità.</b>									
Fettucine	7.25	0.74	11.94	4.75	0.180	0.35	86.77	40.07	0.74
Maccheroni	8.10	0.72	11.81	4.75	0.180	0.41	87.06	40.95	0.58
<b>Paste di frumento di 2ª qualità.</b>									
Maccheroni	7.02	1.19	15.08	5.25	0.720	1.43	82.30	13.35	4.20
Rosari	7.70	1.30	15.50	2.62	0.450	1.37	81.73	11.82	0.97
<b>Paste di frumento di 3ª qualità.</b>									
Maccheroncini	7.81	2.23	18.06	3.30	0.540	4.26	78.45	14.64	0.56
Spaghetti	11.82	2.31	18.06	2.62	0.720	1.42	78.21	14.42	0.61
<b>Pasta di solo granturco giallo</b>									
Peperini	9.16	4.41	11.50	1.75	0.540	3.05	81.04	19.53	2.16
<b>Pasta di semolini di frumento col 33 % di farina di granturco bianco.</b>									
Fettucine	8.43	1.08	14.75	2.63	0.540	4.04	83.43	19.91	0.96
Spaghetti	8.18	1.03	14.75	2.63	0.540	0.79	83.43	9.77	0.76
<b>Pasta di sarraglia con farina di granturco bianco e giallo.</b>									
Lenicchie	8.27	1.53	16.94	2.63	0.540	1.62	78.81	14.09	1.05
Semi di melone	6.90	1.37	14.62	3.50	0.540	4.02	82.99	15.40	0.74
Semi di melone	6.56	1.76	13.06	3.50	0.540	2.11	83.07	12.42	1.19
Maccheroncini	7.29	1.41	13.31	1.75	0.450	1.36	84.22	14.71	1.22

Se la soluzione, acidificata con acido acetico, si dibatta con etere, tutta la materia colorante, trasformata in dinitronaftolo ed insolubile nell'acqua, si scioglie in questo solvente e l'acqua si decolora. Se si separi l'etere si faccia evaporare in bagnomaria ed al residuo si aggiunga qualche goccia di acqua ammoniacale, si riotterrà nuovamente il colorito giallo. Se si separi il precipitato ottenuto con acido cloridrico, si disciolga in acqua bollente leggermente ammoniacale e si aggiungano 15 gocce di soluzione concentrata di cianuro di potassio, il liquido si cambia immediatamente in bruno intenso e, dopo qualche tempo, dà un precipitato, il quale, raccolto, lavato a grandi acque e trattato con acido solforico concentrato, dà una colorazione rosso violacea. Questa reazione è caratteristica e distingue il giallo Martius dal Vittoria.

#### **Giallo naftol solfonico.**

La soluzione neutra del colore, trattata con alcune gocce di soluzione concentrata di cianuro di potassio e riscaldata blandamente in bagnomaria, passa al giallo aranciato. La soluzione concentrata, trattata con acido cloridrico, non dà precipitato alcuno od intorbidamento, sbiadisce solo leggermente. Se la soluzione, acidificata con acido acetico, si dibatta con etere, non si scioglie affatto colore in questo solvente e l'acqua perciò rimarrà colorata.

#### **Giallo auranzia.**

La soluzione neutra del colore, trattata con alcune gocce di soluzione concentrata di cianuro di potassio e riscaldata blandamente in bagnomaria, passa al verdastro con tendenza al bleu. La soluzione concentrata, trattata con poche gocce di acido cloridrico, diviene giallo chiara e non dà precipitato; la soluzione diluita sbiadisce. Se la soluzione, acidificata con acido acetico, si dibatta con etere, la materia colorante si scioglie in questo solvente e l'acqua rimane scolorata.

La soluzione, trattata con alcali, non dà precipitato a differenza del giallo Martius.

#### **Giallo Vittoria.**

La soluzione neutra, trattata con alcune gocce di soluzione concentrata, di cianuro di potassio, passa al rosso malaga. La soluzione concentrata, trattata con acido cloridrico, si decolora e dà un precipitato, il quale è solubile nell'eccesso di acido. La soluzione diluita sbiadisce soltanto.

La soluzione, trattata con acido acetico e dibattuta con etere, cede tutto il colore a questo solvente e l'acqua rimane scolorata.

#### **Giallo metanile o tropeolina G.**

La soluzione acquosa, trattata con acido cloridrico, passa al rosso fuesina e dà un precipitato.

### Acido picrico.

L'acido picrico non può servire per la colorazione delle paste da minestra, perchè ha sapore amaro; nel caso, presenta le seguenti reazioni: La soluzione neutra, mescolata con alcune gocce di soluzione concentrata di cianuro di potassio e riscaldata cautamente in bagnomaria, passa al rosso sangue, per la formazione dell'acido isopurpurico. La reazione ha la sensibilità di 1:1600 (Reichard). La soluzione concentrata di acido picrico, trattata con alcune gocce di acido cloridrico, non si intorbida.

### Zafferano.

Per ricercare lo zafferano, si estrae la pasta più volte con alcool; la soluzione si fa evaporare in bagnomaria ed il residuo si tratta con acido solforico concentrato. In presenza della materia colorante dello zafferano (crocina) si avrà il passaggio dal giallo al bleu.

### Giallo d'uovo.

Il giallo d'uovo o la luteina non si fissa sulla lana in bagno acido. Per ricercarlo si polverizzano due caupioni di pasta di 20 gr. ciascuno e si mettono in due grossi tubi; in uno poi si versano 15 cmc. di etere e nell'altro 15 cmc. di alcool 70% e si dibatte fortemente. Nel caso che l'etere si colori, si può concludere che nella pasta esiste il giallo d'uovo; nel caso che si colori solo l'alcool si può concludere che nella pasta vi è una materia colorante derivata dal catrame. In ogni caso, è necessario di accertarsi che la materia colorante, sciolta nell'etere, sia luteina: ciò si fa, trattando la soluzione eterea con soluzione acquosa di acido nitroso. La luteina si decolora immediatamente mentre non si decolorano le materie coloranti gialle derivate dal catrame.

### Paste all'uovo.

In commercio, oltre alle paste, di cui abbiamo parlato, e che possono essere chiamate *paste all'acqua*, si trovano le *paste all'uovo* che talvolta contengono realmente le uova, ma che spesso, invece delle uova, contengono surrogati o polveri di sostanze albuminoidi e materie coloranti gialle. Per esser chiamate *all'uovo* coteste paste devono contenere almeno due uova, di media grandezza, in mezzo chilogrammo di farina o di semolino e non devono esser colorate artificialmente. Le paste all'uovo che contengano meno uova e che siano colorate artificialmente, devono essere considerate sofisticate e non rispondenti al nome, oppure *paste all'acqua* vendute con nome diverso.

Per scoprire cotesta sofisticazione, è necessario ricorrere alla ricerca delle materie coloranti aggiunte ed alla determinazione

dell'acido lecitinfosforico. La determinazione dell'estratto etereo e del numero di jodio del grasso, estratto dalla pasta, possono dare indicazioni utili, ma non tanto sicure quanto l'acido lecitinfosforico. Perchè è facile aggiungere alla pasta una quantità piccolissima di grasso ed elevarne la quantità totale, ma non si può, così facilmente, aggiungere un acido che è costituente importante del torlo d'uovo.

### **Materie coloranti aggiunte.**

La ricerca delle materie coloranti aggiunte si fa come è stato detto dianzi nelle paste all'acqua.

### **Estratto etereo ed acido lecitinfosforico.**

La determinazione dell'estratto etereo e dell'acido lecitinfosforico si fa nel modo seguente: La pasta secca si tritura finamente in un mortaio, si staccia e della parte stacciata, seccata nuovamente a 100° C. si pesano 35 gr. Questa polvere si mescola con alcuni fiocchi di asbesto o di ovatta sgrassata e si chiude in carta da filtro, formandone un pacchettino, di cui la parte inferiore si avvolge nell'ovatta, per impedire una fuoriuscita della pasta. Si mette il pacchetto in un estrattore Soxhlet e si estrae con etere 8 o 12 ore; l'etere si fa evaporare; il matraccio col residuo si fa seccare in stufa 3 o 4 ore a 100° e si pesa. La differenza di peso tra il matraccio ed il residuo, ed il matraccio vuoto, dà la quantità di estratto etereo, contenuto nei 35 gr. di pasta, che con facile calcolo, si riferisce a 100. Lo stesso matraccio, che contiene l'estratto etereo, e nel quale si mette alcool assoluto, e qualche pezzetto di pomice, si congiunge nuovamente coll'estrattore e si riscalda a fiamma diretta, in modo che l'alcool che cade nell'estrattore non segni una temperatura superiore a 60°.

Si fa agire l'apparecchio per 10 ore o 12, poi si distilla l'alcool, il residuo si saponifica con 5 cme. di soluzione alcoolica di potassa Meissl, il sapone si scioglie nell'acqua e la soluzione si fa passare in una capsula di platino insieme ai lavaggi del matraccio. Si fa evaporare l'acqua in bagnomaria, il residuo si fa essiccare in stufa a 100° e si incinera a fiamma diretta fino alla scomparsa del carbone, avvertendo di non elevar troppo la temperatura per non permettere ai fosfati alcalini di evaporarsi. Nel residuo si determina l'acido fosforico col metodo al molibdato.

Si scioglie la cenere in acqua acidulata con acido nitrico. La soluzione si filtra e si fa passare in un becher contenente 100 cme. di soluzione di molibdato d'ammonio (1) Si mescola, ed il becher si copre e si lascia 12 ore in un ambiente riscaldato a 40° C. circa. Si prende con una pipetta un pochino della soluzione limpida soprastante al precipitato, si mescola col l'egual volume di soluzione di molibdato d'ammonio e si riscalda lungo tempo a 40° C., per vedere se si formi ancora precipitato di fosfomolibdato d'ammonio, ovvero se nel liquido vi sia ancora acido fosforico non precipitato. Nel caso che si formi precipitato, si aggiunge nuova soluzione di molibdato, insieme al liquido che ha servito per il saggio, si rimescola e si lascia a 40° per altre 12 ore ancora. E ciò si ripete fino a che il liquido estratto, per aggiunta di

(1) Vedi: Acqua - Acido fosforico.

nuova soluzione di molibdato e per un prolungato riscaldamento a 40°, non dia precipitato alcuno. Allora si filtra, il precipitato si lava più volte per decantazione con un liquido formato di 100 parti di soluzione molibdica, 20 p. di acido nitrico del peso specifico 1.2 e 80 p. di acqua. Il lavaggio si prolunga fino a che il liquido che scola, trattato con eccesso di ammoniaca, non dia alcun intorbidamento o precipitato. Si scioglie allora il precipitato giallo rimasto nel becher, nella quantità più piccola possibile di ammoniaca, si fa passare sul filtro, per sciogliere quel po' di precipitato che può esservi pervenuto, e si lava becher e filtro con una soluzione formata di 1 parte di ammoniaca e 3 p. di acqua. Il filtrato si tratta con acido cloridrico fino a che il precipitato giallo, che nuovamente si separa, non si ridiscioglie immediatamente, ma dopo un certo tempo; si aggiunge allora mistura magnesiaca (8 p. di acqua, 4 p. di ammoniaca, 1 p. di solfato di magnesio, 2 p. di cloruro d'ammonio puro), fino a che si formi precipitato. Si lascia in riposo, per 12 ore, in luogo non troppo caldo, e si filtra per filtro di cui si conosca la quantità di cenere. Il precipitato, raccolto nel filtro, si lava con una mescolanza di 3 p. di acqua ed 1 p. di ammoniaca,  $d = 0.96$ , fino a che le acque di lavaggio, acidificate con acido nitrico e trattate con nitrato d'argento, non diano più intorbidamento. Si fa seccare in stufa ed il precipitato secco si fa passare in un crogiuolo di platino pulito e pesato: il filtro, a cui è stato tolto il precipitato nel miglior modo possibile, si brucia su di un filo di platino e le ceneri si fanno cadere nel crogiuolo. Si riscalda il crogiuolo moderatamente, per un certo tempo, poi fino al rosso: si lascia raffreddare, si aggiunge qualche goccia di acido nitrico per imbianchire il pirofosfato di magnesio, e si riscalda, prima leggermente per fare evaporare l'acido nitrico, poi fino al rosso. Si fa freddare in essiccatore e si pesa. La differenza tra questo peso e quello del crogiuolo vuoto dà la quantità di pirofosfato di magnesio più le ceneri del filtro che devono essere sottratte.

Dal pirofosfato di magnesio si calcola l'anidride fosforica, sapendo che a 222 di pirofosfato di magnesio corrispondono 142 di anidride fosforica.

Dall'anidride fosforica lecitinica, riferita a 100 parti di pasta secca, si calcolano il numero delle uova ricorrendo alla tabella seguente, calcolata da Iuckenack:

TAB. 64.

N. delle uova per libra di farina (1)	Anidride fosforica totale %	Anidride fosforica lecitinica %	N. delle uova per libra di farina (1)	Anidride fosforica totale %	Anidride fosforica lecitinica %
0	—	0.0225	7	0.4795	0.1954
1	0.2716	0.0513	8	0.5086	0.2155
2	0.3410	0.0786	9	0.5362	0.2348
3	0.3482	0.1044	10	0.5626	0.2531
4	0.3834	0.1289	11	0.5880	0.2707
5	0.4172	0.1522	12	0.6123	0.2875
6	0.4490	0.1774			

L'estratto etero, nelle paste all'uova, aumenta col numero delle uova. Esso può dare utili indicazioni quando nella pasta non siano pervenuti grassi estranei di sorta.

(1) Una libra tedesca corrisponde a gr. 370,78.



Filsinger ha dato le seguenti analisi, come punto di ritrovo:

TAB. 65.

Pasta	Ceneri. meno i cloruri %	Anidride fosforica totale %	Sostanze azotate albuminoidi %	Estratto eterico %
Farina ungherese . . .	0.48	0.22	11.60	0.22
» tedesca . . .	0.51	0.15	9.06	0.32
» con 2 uova	0.55	0.24	9.69	1.02
» » 4 » /	0.61	0.30	12.06	2.34
» » 6 » \	0.76	0.33	13.25	3.30
» » 12 » in 4 kg. farina	0.94	0.42	14.20	5.80

### Numero di jodio.

Il grasso estratto dalla pasta con etere, si riprende con etere di petrolio, il quale scioglie, a preferenza, il grasso e lascia indietro altre sostanze diverse dai grassi e solubili nell'etere. Si evapora l'etere di petrolio e sul residuo si determina il numero di jodio, come si fa per gli olii (V. olio di oliva).

Si giudicherà una pasta priva di uova allorchè contenga una quantità di acido lecitinfosforico, che, calcolato in anidride fosforica, sia inferiore a gr. 0,045 % della pasta secca e quando dia una quantità di estratto eterico inferiore a 0.5 % ed un numero di jodio del grasso superiore a 98.

### Olio di oliva.

L'olio di oliva, per l'uso grandissimo che ha nella nostra alimentazione, è divenuto oggetto di molteplici sofisticazioni. Si prepara dal frutto dell'*olea europea*, schiacciandolo con macine di granito o di arenarie dure e comprimendo la pasta ottenuta, con torchi di maggiore o minore potenza.

A seconda del modo di estrazione, si ottengono varie qualità di olio. Così, si chiama *vergine* l'olio ottenuto comprimendo a freddo l'oliva infranta; si chiama di *seconda pressione* l'olio ottenuto trattando i residui della prima pressione con acqua calda e comprimendo nuovamente. In tutti i modi, gli olii ottenuti a freddo hanno un colore giallo d'ambra o leggermente verdastro, a seconda della qualità delle olive, un sapore delicato, un odore gradevole ed una maggiore resistenza all'irrancimento. Al contrario, gli olii ottenuti a

caldo hanno un colore giallo verdastro, un odore ed un sapore poco gradevole ed irrancidiscono molto facilmente.

COMPOSIZIONE DELL'OLIO. — L'olio di oliva non è una sostanza unica, ma una mescolanza di gliceridi degli acidi grassi della serie satura e della serie non satura. La glicerina è generalmente l'alcool che eterifica gli acidi grassi: in piccola parte però è sostituita dalla fitostearina ( $C^{26} H^{54} O + H^2 O$ ) nei grassi vegetali e dalla colesterina, isomero della fitostearina, nei grassi animali.

#### COMPOSIZIONE DI ALCUNI OLI.

TAB. 66.

Qualità	Densità a 15°	Punto di fusione degli acidi grassi	Acidi grassi insolubili	Numero di saponificazione	Numero di iodio
Olio di oliva . . .	0,909-0,917	23,0-33,0	65,5-96,2	191,8-196	78,5- 84
Olio di sesamo . .	0,923-0,924	24,5-31,5	95,8	187 -191,5	103 -109
Olio di arachide . .	0,916-0,920	27 -35	95,8	190 -197	91 -105

Gli acidi grassi che fanno parte della composizione dell'olio di oliva sono:

##### Acidi della serie satura.

- Acido stearico ( $C^{18} H^{36} O^2$ )
- » palmitico ( $C^{16} H^{32} O^2$ )
- » miristico ( $C^{14} H^{28} O^2$ )
- » caprinico ( $C^{10} H^{20} O^2$ )
- » caprilico ( $C^8 H^{16} O^2$ )
- » caproico ( $C^6 H^{12} O^2$ )

##### Acidi della serie non satura.

- Acido oleico ( $C^{18} H^{34} O^2$ )

L'olio d'oliva contiene 72 °, circa di oleina e 28 °, di palmitina mescolata a piccole quantità di gliceridi degli altri acidi soprannominati. La colorazione verdastrea dell'olio sembra dovuta ad una sostanza speciale, a cui è stato dato il nome di *viridina*.

#### Sofisticazioni dell'olio di oliva.

L'olio di oliva generalmente si sofisticava coll'olio di cotone, di sesamo, di arachide e con oli minerali.

Per scoprire gli oli di semi in genere si usano le seguenti reazioni cromatiche, che, tra le tante, sono le più attendibili.

Reazione di Heydenreich. — In una capsulina di porcellana si versano 6 o 7 cme. di acido solforico purissimo, incolore e della densità 66° B. e vi

si lasciano cadere sopra 5 o 6 gocce dell'olio in esame, senza rimescolare. Nel punto di contatto tra l'acido e l'olio si formerà una zona colorata in giallo aranciato o bruna, se l'olio è di semi; non si avrà colorazione alcuna o semplicemente verdastria se l'olio è di oliva.

*Reazione di Hauchecorne.* — In un tubo da saggio si versano 3 emc. di acido nitrico diluito (acido a 40° B. p. 3; acqua p. 1) e 6 o 7 emc. di olio; si agita bene e si riscalda in bagno d'acqua bollente per venti minuti. Poi si osserva la colorazione presa dall'olio: quasi tutti gli oli di semi si colorano in giallo aranciato o in bruno intenso; l'olio di oliva puro conserva il suo colorito naturale o sbiadisce un poco.

*Reazione di Halphen, per l'olio di cotone.* — Egnali quantità di olio, di alcool amilico e di solfuro di carbonio, contenente 1 °. di zolfo, si mettono in un grosso tubo da saggio e la mescolanza si riscalda in bagnomaria bollente per un quarto d'ora o più. In presenza di olio di cotone o di mescolanze con molto olio di cotone apparisce, dopo pochi minuti di riscaldamento, una colorazione rossa aranciata; in presenza di mescolanze con poco olio di cotone, la colorazione si manifesta dopo mezz'ora (1 °.) e dopo un tempo ancora più lungo (tre ore) nella proporzione 0,25 °. (Vauter).

L'olio di cotone riscaldato a 200 gradi non dà più la reazione predetta. La reazione di Halphen è applicabile allo strutto ed anche al burro con grande sicurezza.

*Reazione di Boudin per l'olio di sesamo.* — In un tubo da saggio si versano 10 emc. circa di olio, eguale quantità di acido cloridrico concentrato della densità 1,19 e 2 gocce di una soluzione diluita di furfurolo, preparata sciogliendo 1 gr. di furfurolo, distillato di recente in 100 emc. di alcool 95 °. Si sbatte vivamente la mescolanza per qualche minuto e si lascia in riposo: in breve si separa, nella parte inferiore del tubo, uno strato di liquido acido colorato in rosso cremisi.

La reazione è sensibilissima e permette di scoprire nelle mescolanze 1 °. di olio di sesamo.

Oli di oliva purissimi danno talvolta la reazione dell'olio di sesamo: per mettersi al riparo da un errore, la reazione si fa, piuttosto che sull'olio direttamente, sugli acidi grassi ottenuti da esso. Perchè, in questo caso, la parvenza della reazione dell'olio di sesamo, data dall'olio di oliva, non si ha più negli acidi grassi, i quali però daranno sempre la reazione nel caso che sia stato aggiunto olio di sesamo.

*Ricerca dell'olio di arachide.* — L'olio di arachide si ricerca nel modo seguente: Si versa in un grosso tubo da saggio 1 emc. di olio sospetto, si mescola con 5 emc. di una soluzione alcoolica di potassa 85 %., si riscalda, agitando, fino a soluzione completa e si mantiene all'ebollizione per 1 o 2 minuti. Si aggiunge 1,5 emc. di acido acetico diluito, corrispondente a 5 emc. di potassa impiegata per la saponificazione, si mescola, si fa raffreddare rapidamente, si aggiungono 50 emc. di alcool a 20 % contenente 1 emc. di acido cloridrico, si agita la mescolanza più volte e si raffredda in bagno tra 17° e 19°. Se l'olio contenga più del 10 % di olio di arachide, l'alcool lascia un precipitato di acido arachico, più o meno abbondante, ma sempre visibile; al di sotto del 10 % il liquido

diviene limpido o presso a poco, ma, se, dopo aver lasciato per mezz'ora il tubo nell'acqua a 17° o 19°, si guardi lungo l'asse del tubo stesso, si osserverà una nube che ne maschera il fondo. Cogli olii puri il fondo del tubo è sempre perfettamente visibile (Ballier).

L'olio di arachide si può ricercare anche nel modo seguente: si mescolano, in un piattellino di porcellana, 10 gocce di olio con una goccia di un reattivo, preparato sciogliendo 0,25 gr. di molibdato di sodio in 20 emc. di acido solforico concentrato. Si manifesta prima una colorazione giallo verdastro che, per agitazione, passa al rosso porpora (Emegelen).

### Numero di jodio.

Per la determinazione del numero di jodio servono i reattivi seguenti:

*Soluzione di jodio.* — 25 gr. di jodio si sciogliono in 500 emc. di alcool a 95  $\frac{1}{10}$ .

*Soluzione di cloruro di mercurio.* — 30 gr. di cloruro di mercurio si sciogliono in 500 emc. di alcool 95  $\frac{1}{10}$ . La soluzione, se sia necessario, si filtra.

Queste due soluzioni si mescolano a volumi eguali 48 ore avanti l'uso.

*Soluzione di iposolfito di sodio.* — Si sciogliono 25 gr. di cotesto sale in un litro di acqua distillata. Il titolo si determina con una soluzione di bicromato di potassio, secondo Wolhard, contenente 3,870 gr. di bicromato di potassio purissimo e fuso in un litro di acqua distillata.

In un matraceo della capacità di 255 emc. si versano 15 emc. di una soluzione 10  $\frac{0}{10}$  di joduro di potassio, si acidifica la soluzione con 5 emc. di acido cloridrico concentrato e si aggiunge acqua fino a raggiungere il volume di 100 emc. Si aggiungono poi, agitando, 20 emc. della soluzione di bicromato, la quale mette in libertà esattamente gr. 0,20, cioè gr. 0,01 per ogni emc., di jodio. Si titola con iposolfito lo jodio liberato, servendo l'amido come indicatore, aggiungendo cioè iposolfito fino a che sia completamente scomparsa la colorazione bleu dell'amido.

La soluzione di bicromato si conserva lungamente inalterata e serve sempre per il controllo della soluzione di iposolfito, che in estate si altera facilmente.

Il titolo dell'iposolfito è dato dal numero di emc. impiegati per trasformare lo jodio messo in libertà dal bicromato di potassio, ovvero questo numero di emc. di soluzione di iposolfito è capace di trasformare esattamente gr. 0,20 di jodio.

*Cloroformio depurato.*

*Soluzione 10  $\frac{0}{10}$  di joduro di potassio.*

*Soluzione d'amido.* — Si scioglie 1 gr. di amido in 100 emc. di acqua distillata bollente.

DETERMINAZIONE DEL NUMERO DI JODIO. — Si pesano in un recipiente di cristallo di pareti sottili e con chiusura a smeriglio gr. 0,5 od 1 di olio e rispettivamente di grasso, si aggiungono 15 emc. di cloroformio e poi 30 emc. di soluzione di jodio. Se il liquido, dopo agitazione, non sia chiaro, si deve aggiungere nuovo cloroformio; se la colorazione dello jodio scomparisca dopo

poco tempo, si deve aggiungere ancora soluzione di jodio. La quantità dello jodio deve essere tale da fare apparire, dopo 1 ora e mezza o 2, il liquido ancora colorato fortemente in bruno. Si deve evitare di esporre il recipiente alla luce solare e ad una temperatura superiore ai 15 o 18° C. Dopo due ore, la reazione si può dire compiuta: alla mescolanza si aggiungono allora 15 cmc. di soluzione di joduro di potassio, 100 cmc. di acqua ed iposolfito di sodio, facendolo colare da una butetta, fino a che il liquido appaia colorato leggermente in giallo. A questo punto si aggiunge qualche goccia di soluzione di amido, come indicatore, e finalmente iposolfito da fare scomparire completamente la colorazione bleu.

Contemporaneamente a questa determinazione si deve fare una prova in bianco, adoperando gli stessi ingredienti ed in quantità identica, per conoscere la quantità di jodio assorbita da questi.

Si calcola lo jodio libero nella prova in bianco; si calcola lo jodio libero nella prova con grasso, si sottrae questa quantità da quella e la differenza rappresenta la quantità di jodio assorbita dal peso di grasso od olio messo in reazione. Con una semplice proporzione, si riferisce lo jodio assorbito a 100 p. di olio o di grasso e questo è il *numero di jodio* o anche l'*indice di jodio*.

Nelle condizioni scelte, gli acidi grassi saturi o appartenenti alla serie acetica, non si combinano collo jodio, mentre gli acidi delle serie non sature sommano tutti jodio per trasformarsi in derivati alogenici della serie satura.

Quindi, il numero di jodio dà la misura della quantità degli acidi non saturi contenuti in una materia grassa.

L'olio di oliva ha un numero di jodio che oscilla tra 78 ed 84; l'olio di cotone tra 111 e 116; l'olio di sesamo tra 103 e 110; l'olio di arachide tra 91 e 105.

**OLII MINERALI.** — Gli olii minerali nell'olio di oliva si ricercano e si determinano approssimativamente nel modo indicato da Blarez. Si dibattano, cioè, 10 cmc. di olio sospetto con 10 cmc. di acido solforico concentrato in un tubo graduato e la mescolanza si lascia in riposo per 24 ore. Si ottengono due strati, nel caso che l'olio sia stato solificato: uno inferiore quasi nero, formato della mescolanza acido solforico ed olio, l'altro superiore chiaro, formato dall'olio minerale aggiunto. Dal volume di quest'ultimo si calcola la quantità di olio minerale per cento.

#### **Alterazioni dell'olio di oliva.**

L'olio di oliva può essere alterato o per cattiva preparazione o per cattiva conservazione. Per cattiva preparazione, l'olio ha sapore ed odore disgustosissimi, per i quali ad ognuno è dato di accorgersi di cotesta alterazione. Per cattiva conservazione, l'olio acquista un sapore acuto e piccante al quale è stato dato il nome di rancido.

Per determinare il grado di rancidità di un olio, si determina l'acidità, la quale, quantunque non stia in relazione vera colla rancidità, quando è molto elevata, può dare indizio sufficiente della decomposizione dell'olio.

L'acidità si determina mettendo 5 gm. di olio in un matraccio insieme a 50 cmc. di una mescolanza di 3 parti di alcool 90 % e 7 parti di etere e determinando l'acidità della soluzione con potassa  $N_{10}$ , servendo da indicatore la fenolftaleina. L'acidità si calcola in acido oleico, sapendo che ad 1 cmc. di potassa  $N_{10}$  corrispondono gr. 0,0282 di cotesto acido.

Il limite massimo di acidità tollerabile in un olio sano non si può stabilire con sicurezza; però un olio si può giudicare scadente quando abbia un'acidità superiore a 3 gr. di acido oleico per cento.

Con più sicurezza, si può apprezzare la rancidità dell'olio di oliva, determinando la quantità di acidi volatili, solubili nell'acqua, in 10 gr. dell'olio, nell'identico modo che si fa per il burro. Gli olii sani e freschi non contengono acidi volatili, oppure ne contengono una piccolissima quantità; gli olii rancidi invece ne contengono una quantità che cresce col crescere della rancidità. Da una quantità di acidi volatili, corrispondenti a cmc. 0,2 di potassa  $N_{10}$  per 10 gr. di olio, e che si può ritenere come normale per gli olii freschi, si può cominciare a calcolare la rancidità, indicando come *grado* ogni decimo di cmc. di potassa, consumata per l'acidità superiore a cmc. 0.2.

### Conservas alimentari.

La preparazione di conserve alimentari è una industria che si è sviluppata verso il principio del secolo scorso ed ha avuto per obbiettivo di preservare gli alimenti dalle alterazioni spontanee, sia togliendo loro l'acqua, sia incorporandoli con sale, sia immergendoli in liquidi speciali, sia chiudendoli in recipienti di cristallo o di metallo escludendone l'aria.

Coteste conserve alimentari non sempre si mantengono sane; e possono contenere sostanze dannose alla salute, come veleni organici che si generano in putrefazioni o decomposizioni incipienti, metalli tossici che possono pervenirvi da stagnature improprie, o studiosamente aggiunti; sostanze antisettiche capaci d'impedire la putrefazione dell'alimento conservato.

### Metalli tossici.

Il piombo, il rame, lo zinco e l'arsenico sono i metalli che spesso si incontrano nelle conserve.

La ricerca del piombo si fa bruciando 100 gr. di conserva e riscaldando direttamente il residuo al rosso scuro fino a scomparsa totale del carbone. Le ceneri si riprendono con acqua acidulata con acido nitrico, si filtra, ed il filtrato si evapora a secchezza in bagnomaria. Si riprende con acqua distillata il residuo ove il piombo si trova in forma di nitrato, si versa in

tubo da saggio e si tratta con acido solforico. Il piombo precipiterà in forma di solfato bianco pesante, solubile nel tartrato d'ammonio. In altra porzione debolmente acida, si aggiunge cromato di potassio, ed in presenza di piombo si avrà precipitato giallo che arrossa per ebollizione con un po' di soda o di potassa e si scioglie in un eccesso d'alcali.

Il rame si ricerca nel modo seguente: 100 gr. di conserva si trattano con acido cloridrico diluito, si riscalda leggermente la mescolanza e si lascia in digestione per 1 o 2 ore.

Si filtra, si concentra il liquido in bagnomaria, si neutralizza con carbonato di soda e si opera, per il resto, come è stato detto per le farine.

Lo zinco si ricerca nel modo seguente: si incinerano 100 gr. di conserva, il residuo si riprende con acido cloridrico diluito, la soluzione acida si tratta con idrogeno solforato, per eliminare, nel caso che vi fossero, rame, piombo e stagno e si filtra. Il filtrato si tratta con qualche goccia di acido nitrico, si riscalda in bagnomaria, si filtra e si tratta con cloruro ammonico ed ammoniacale. Si filtra ancora, se si formi un precipitato, ed il filtrato si tratta con acido solfidrico. Lo zinco si precipiterà in forma di solfuro bianco.

L'arsenico si potrà ricercare nella conserva stessa col metodo Marsh, oppure colla reazione, proposta da Gosio o colla reazione di Reinsch, descritta nell'esame degli oggetti d'uso domestico.

### Antisettici.

Gli antisettici che più comunemente si aggiungono alle conserve sono: acido salicilico, acido borico, formalina, fenoli.

L'acido salicilico, la formalina e l'acido borico si ricercano come è stato detto per il latte, salvo il caso nel quale si tratti di conserve solide. L'acido salicilico allora si ricrea, trasformando in poltiglia la conserva, acidificando con acido fosforico e distillando. L'acido salicilico distilla col vapore d'acqua e si può ricercare con cloruro ferrico separandolo dal distillato con etere ed etere di petrolio.

L'acido borico si ricerca incinerando la conserva ed operando come per la carne conservata; la formalina, distillando la poltiglia insieme all'acqua e facendo la reazione nei primi prodotti della distillazione.

I fenoli si ricercano nel modo seguente: la conserva liquida oppure solida, ridotta in sottile poltiglia, si acidifica con acido solforico e si distilla in corrente di vapore d'acqua. La maggior parte dei fenoli distillano e si trovano nelle prime porzioni del distillato. Questo si dibatte con cloroformio, il quale, dopo separazione, si tratta con un po' di potassa e si scalda all'ebollizione. In presenza di fenoli si avranno colorazioni variabili, cioè:

per il fenolo: rosso sbiadito, che, lentamente a freddo, rapidamente a caldo, passa al bruno, al giallo chiaro e si decolora;

per l'o-cresolo: lilla, tendente all'arancio;

per il  $\beta$ -naftolo: bleu carico, che passa al verde poi al bruno;

per il salolo: rosso, come il fenolo.

Ora, una conserva che contenga piombo, rame in quantità maggiore di gr. 0,1 per kg. nelle verdure soltanto, zinco, arsenico ed antisettici deve essere esclusa dall'alimentazione.

Alla conserva di pomodoro si aggiungono anche materie coloranti rosse derivate dal catrame, le quali si ricercano nel modo seguente:

Si spappola la conserva in acqua; si acidifica il liquido leggermente con acido cloridrico e si estraggono le materie coloranti aggiunte, colla lana, come è stato detto per le paste da minestra. In queste condizioni, le materie coloranti aggiunte si fissano sulla lana, la materia colorante del pomodoro non si tissa.

Per l'identificazione di coteste materie coloranti servono le norme date nel vino. La materia colorante naturale del pomodoro è solubile nell'etere, nella benzina, nel cloroformio e nel solfuro di carbonio; è insolubile nell'acqua, nell'alcool etilico e nell'alcool amilico. È alterabilissima e con acido solforico o nitrico concentrato passa all'azzurro; non è alterata dall'ammoniaca (G. De Negri).

## BEVANDE ALCOLICHE.

### Vino.

Il vino è la bevanda alcoolica che più abbondantemente si consuma e che più si sofisticata.

Si prepara facendo fermentare il succo premuto dell'uva e facendo maturare ed invecchiare il succo fermentato in recipienti appositi di legno, oppure di cristallo.

La bontà del vino è dipendente dalla bontà dell'uva, e quindi dalla natura del suolo su cui è piantata la vigna, dalla esposizione, dal modo di coltivazione della vigna stessa, dalla varietà del vitigno, dalle variazioni atmosferiche e dalle malattie che attaccano la vite ed i grappoli.

COMPOSIZIONE DEL MOSTO. — Il mosto, da qualunque uva provenga, contiene le seguenti sostanze:

- 1° zucchero d'uva, inosite o zucchero di frutta;
- 2° sostanze azotate di natura albuminoide, e diastasi (enosidasi);
- 3° pectina ed altre sostanze viscoso;
- 4° materie estrattive, composte di sostanze mal definite, tra le quali le sostanze coloranti e le sostanze odorose;
- 5° acidi organici, quali il tartarico ed il malico;
- 6° sostanze minerali: acido fosforico, silicico, cloridrico, combinati al calcio, al potassio, al magnesio, al ferro ed al manganese.



Tra le sostanze contenute nel mosto, la più abbondante e la più importante è lo zucchero, il quale si può elevare fino al 30 %; le altre sostanze si possono considerare come accessorie, quantunque diano al vino il sapore e l'odore.

FERMENTAZIONE DEL MOSTO. — Il mosto lasciato a sè nelle tine o nelle botti, fermenta e, nei primi giorni, con tale tumulto da far sembrare che il liquido veramente bolla. Poi si arresta il tumulto: lo sviluppo di acido carbonico, tanto energico, diminuisce, la temperatura del liquido si abbassa e resta appena 5° o 6° al disopra di quella dell'ambiente, la densità diminuisce, ed il cappello, nelle tine, si abbassa e qualche volta si affonda.

La fermentazione si può considerare finita allorchè il grado areometrico del liquido non varii più, in maniera sensibile, entro 12 ore.

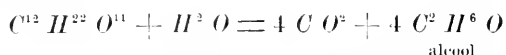
EFFETTI CHIMICI DELLA FERMENTAZIONE. — Nella fermentazione del mosto, l'atto più importante che si compie è la trasformazione dello zucchero in alcool ed acido carbonico e questo avviene per azione di alcuni microrganismi ai quali è stato assegnato il nome di *saccaromiceti*. Però non tutti gli esseri appartenenti a questa famiglia sono capaci di far fermentare convenientemente il mosto: il fermento *ellittico* sembra il più adatto; mentre gli altri trasformano lo zucchero, oltrechè in alcool ed acido carbonico, in altre sostanze che danno al vino sapori più o meno sgradevoli. Per la qual cosa, si è pensato, recentemente, di aggiungere al mosto, appena estratto dall'uva, una certa quantità di coltura pura e rigogliosa di migliori fermenti, collo scopo di sopraffare quelli preesistenti e di sopraffare i batteri che nel mosto trovano un buon terreno per la loro vita, quando i fermenti tardino a produrre quantità di alcool ad essi venefiche. Ed osservazioni accurate, fatte anche in Italia, hanno dimostrato che i vini ottenuti coi fermenti selezionati sono superiori a quelli ottenuti coi fermenti avventizi, specialmente per il bouquet fine e delicato.

Durante la fermentazione tumultuosa, si effettuano i cambiamenti più grossolani e più manifesti: la maggior parte dello zucchero scompare, le sostanze albuminoidi, ed il cremore di tartaro solubili nell'acqua, ma poco solubili nei liquidi alcoolici, si depositano, mentre passano in soluzione le sostanze tanniche e le materie coloranti, contenute nella buccia e nel raspo ed un po' d'oli odorosi, immagazzinati specialmente nel seme.

Anche quando la fermentazione sia condotta colle cautele maggiori e si effettui nelle migliori condizioni, si trovano nel vino sol-

tanto 90 centesimi del glucosio esistente, trasformato in alcool: 2 o 4 centesimi rimangono nel vino in forma di glucosio ed 8 o 6 centesimi vanno perduti, in parte per volatilizzazione dell'alcool, ed in parte per una trasformazione del glucosio in prodotti diversi. Questo *deficit* fu osservato, per la prima volta, da Fresenius, ma fu completamente spiegato colle ricerche successive di Pasteur, il quale dimostrò che lo zucchero, nella fermentazione, si trasforma, oltrechè in alcool ed acido carbonico, in acido succinico, glicerina, grasso e cellulosa.

105,26 di glucosio o 100 di saccarosio dovrebbero dare, secondo l'equazione teorica:



58,81 di alcool e 51,46 di acido carbonico. Ma, nelle migliori condizioni, non si hanno che 51,11 di alcool e 48,89 di acido carbonico: 4,43 di glucosio o 4,21 di saccarosio sono trasformati in 3,16 di glicerina e 0,67 di acido succinico.

**INVECCHIAMENTO DEL VINO.** — Allorchè il vino mosto si mette nelle botti, la fermentazione non si arresta ma prosegue, con grande lentezza, fino alla completa trasformazione dello zucchero. Contemporaneamente le sostanze sospese e poco solubili si depositano, il vino si fa chiaro, meno acido, più saporoso ed odoroso. L'ossigeno dell'aria attacca la materia colorante ed il tannino, i quali col bi tartrato di potassio formano una lacca insolubile che va ad aumentare le fecce.

Un ettolitro di vino deposita, durante il primo anno, da 200 a 300 gr. di cremore di tartaro grezzo.

Il vino si può invecchiare rapidamente riscaldandolo leggermente, oppure sottoponendolo, per qualche tempo, all'azione di una corrente elettrica.

**CORREZIONE DEI MOSTI DI COMPOSIZIONE ANORMALE.** — Dai mosti naturali non sempre si possono ottenere dei vini buoni e serbevibili, sia che essi abbiano una soverchia acidità, sia che contengano una quantità di zucchero troppo piccola. Un mosto, p. es., che contenga il 12 % di zucchero e che abbia un'acidità di 12 %<sub>100</sub>, dà un vino quasi imbevibile. Per la qual cosa, è sorta la necessità di correggere cotesti mosti anormali facendoli avvicinare, più che è possibile, a quelli delle buone annate od a quelli che hanno dato vini eccellenti.

**ZUCCHERAGGIO.** — Per correggere un mosto è necessario, innanzi tutto, di conoscere la quantità dello zucchero che esso con-

tiene. Ciò si fa approssimativamente, ricorrendo al *glucoenometro* che è un comune densimetro nel quale sono segnate le densità, secondo Beaumé, ed in una parte le quantità di zucchero corrispondenti e nell'altra le quantità di alcool che si avranno dopo la fermentazione. La tabella 56 dà la quantità di zucchero corrispondente ai varii gradi del glucoenometro.

TAB. 67.

Grado del glucoenometro	Densità	Chilogrammi di saccarosio in 100 di acqua	Grado del glucoenometro	Densità	Chilogrammi di saccarosio in 100 di acqua
1	1.007	1,5	40	1.073	16,7
2	1.014	3,3	41	1.083	18,5
3	1.021	5,0	42	1.091	20,2
4	1.029	6,6	43	1.099	22,0
5	1.036	8,2	44	1.108	24,0
6	1.044	9,8	45	1.117	26,0
7	1.055	11,4	16	1.125	27,9
8	1.059	13,2	47	1.134	29,8
9	1.067	15			

Se un mosto, per esempio, marchi 16, la sua densità a 15° sarà 1,125: sottraendo da questa densità il numero 0,012 per compensare l'influenza delle altre sostanze che si trovano nel mosto, resta 1,113. Questa densità è compresa tra 1,108 e 1,117, corrispondenti alle quantità di zucchero 24 e 26. Se ora si facciamo le differenze tra le densità e le quantità di zucchero sopra dette, avremo per risultato, 0,009 e 2; dividendo 2 per 0,009, avremo il valore in zucchero di ogni unità che costituisce la differenza, ovvero 0,222. La densità corretta del mosto è 1,113, che differisce da 1,108 di 0,005 in meno: moltiplicando 0,222 per 5 ed il prodotto sommandolo a 24, valore della densità 1,108, si avrà la quantità di zucchero corrispondente alla densità 1,113, ovvero 25,110.

Vediamo ora quale quantità di zucchero di canna o di glucosio si deve aggiungere ad un mosto per aumentare di  $n$  gradi il titolo alcoiometrico del vino. La densità dell'alcool assoluto essendo 0,795, un aumento di  $n$  gradi alcoiometrici corrisponde ad un'aggiunta di gm.  $n \times 0,795$  di alcool assoluto a 100 volumi di vino, meno il

volume corrispondente dell'alcool che deve essere aggiunto. Sapendo ora che nella fermentazione di 100 gr. di zucchero si hanno gr. 51,11 di alcool, si può conoscere la quantità di zucchero necessaria per produrre un grado di alcool, risolvendo la seguente equazione:

$$51,11 : 100 :: 0,795 : x \quad x = 1,555$$

ovvero

$$51,11 : 106 :: 0,975 : x \quad x = 1,633$$

Dunque per aumentare di un grado il titolo alcoolometrico di un vino, sarà necessario di aggiungere al mosto gr. 1,55 di zucchero di canna, oppure 1,633 di glucosio per litro.

È indifferente, per tale correzione, di adoperare lo zucchero di canna, di barbabietole od il glucosio puro. Per l'uso di quest'ultimo anzi si va accentuando una corrente favorevole, appoggiata su esperienze eseguite in Germania da Fresenius W. ed in Italia da Comboni.

CHAPTALIZZAZIONE. — La chaptalizzazione è consigliabile in quei mosti che sono molto acidi e poveri di zucchero. Essa consiste nel togliere loro l'eccesso di acidità con carbonato di calcio e nell'aggiungere una quantità di zucchero per sopperire alla deficienza. Per praticare questa correzione, è necessario però conoscere l'acidità del mosto che si vuol correggere, per poterla poi ridurre alla acidità normale, stabilita in 0,6 ‰ calcolata in acido tartarico.

L'acidità si determina mettendo 50 emc. di mosto in un bicchiere, ed aggiungendo potassa normale fino a che una goccia del liquido, messo sopra carta sensibile di tornasole, non reagisca debolmente alcalino. Dal numero di emc., impiegati per la neutralizzazione, si deduce l'acidità per 100 di mosto, calcolata in acido tartarico, moltiplicandoli per 0,075, ed il prodotto per 2.

L'acidità superiore a quella normale si neutralizza sapendo che 60 parti di acidità libera sono neutralizzate esattamente da 50 parti di carbonato di calcio. Ora, se un mosto abbia, p. es., 8 parti di acidità per litro, 6 essendo normali, dovranno essere neutralizzate soltanto 2. E per sapere la quantità di carbonato di calcio che si deve aggiungere per cotesta neutralizzazione, si risolverà la seguente proporzione:

$$60 : 50 :: 2 : x \quad x = 1,66$$

Ovvero ad un litro di mosto devono essere aggiunti gr. 1,66 di carbonato di calcio.

La quantità di zucchero, da aggiungere, si calcola nel modo detto di sopra.

Colla chaptalizzazione non si aggiunge acqua al mosto; si ottiene un vino più alcoolico, meno acido e con bouquet fine e delicato.

**GALLIZZAZIONE.** — Anche questo processo ha per iscopo di diminuire l'acidità del mosto e di aumentare la quantità di alcool nel vino. Differisce dal metodo di Chaptal soltanto in questo, che invece di neutralizzare l'acidità con carbonato di calcio, si diluisce il mosto con acqua fino ad ottenere l'acidità normale, e si aggiunge zucchero in quantità tale da avere un vino di gradazione alcoolica stabilita. In questo modo si ottiene una quantità maggiore di vino del mosto raccolto, nella supposizione che tutte le sostanze, contenute nel mosto all'infuori dello zucchero e degli acidi, non abbiano che una parte esigua nel conferire bontà e sapidità al vino.

Secondo Gall, un mosto normale deve avere la composizione seguente:

Acqua . . . . .	75,4 ‰
Zucchero . . . . .	24,0 »
Acidità libera . . . . .	0,6 »

Un mosto quindi che, per le cattive condizioni della stagione, abbia, per es., la composizione seguente:

Acqua . . . . .	86,6 ‰
Zucchero . . . . .	11,6 »
Acidità libera . . . . .	1,8 »

deve esser corretto, aggiungendo acqua e zucchero, nel modo che si dirà qui appresso.

#### Acqua.

La quantità di acqua da aggiungere al mosto per portarlo all'acidità normale, si calcola risolvendo la proporzione seguente:

$$0,6 : 75,4 :: 1,8 : x \quad x = 226,2$$

quindi per ridurre un'acidità di 1,8 a 0,6 ‰ il mosto deve contenere 226,2 di acqua, ma ne contiene già 86,6, se ne deve aggiungere 139,6 ‰.

#### Zucchero.

La quantità di zucchero da aggiungere si calcola in modo analogo all'acqua:

$$0,6 : 24 :: 1,8 : x \quad x = 72$$

Quindi il mosto, per un'acidità di 1,8, deve contenere 72 % di zucchero; ne contiene 11,6, se ne deve aggiungere 60,4 %.

Così, nel caso su esposto, la quantità del mosto è quasi raddoppiata.

### Composizione del vino.

Il vino, in qualsiasi modo preparato, è un liquido di composizione molto complessa e contiene le seguenti sostanze:

Acqua:	Tartrato neutro di potassio;
Alcool etilico:	Tartrato d'ammonio;
Alcool butirrico e glicol butilenico;	Tartrati acidi di allumina e ferro;
Aldeidi varie:	Racemati, acetati, propionati, butirrati, ecc., solfati, fosfati, silicati, cloruri, bromuri, ioduri, fluoruri, borati, ecc., di potassio, ammonio, sodio, calcio, magnesio, alluminio, manganese, ferro, ecc.;
Etere acetico, butirrico, caprinico e caprilico;	
Oli essenziali vari;	
Glucosio ed inosite:	
Gomma;	
Destrina e pectina;	
Materie coloranti:	Acido carbonico, tartarico, racemico, malico, tannico, citrico, acetico, lattico, succinico e salicilico in piccola quantità (0,000825 in 1 litro).
Glicerina e materie grasse;	
Sostanze azotate (albumina, gliadina e diastasi);	
Tartrato acido di potassio;	

### Analisi del vino.

L'analisi del vino comprende varie determinazioni: quelle però che più comunemente si eseguiscano sono:

Peso specifico;	Gessatura;
Alcool;	Acido salicilico
Estratto secco;	Acido nitrico;
Acidità totale;	Allume;
Acidità fissa e volatile;	Cloruro di sodio;
Acido tartarico libero;	Arsenico;
Bitartrato di potassio;	Metalli pesanti;
Glicerina;	Saccarina;
Zuccheri;	Abrastol;
Natura delle materie coloranti;	Fluoruri, ecc.
Ceneri;	

### Presca del campione.

Il campione del vino da esaminare deve essere contenuto in bottiglie possibilmente bianche, lavate con grandissima cura, prima con acqua poi con lo stesso vino. Si deve badare che non siano rimaste aderenti alle pareti di esse le materie che altra volta possono aver contenuto. Devono essere più che è possibile piene (salvo una ventina di cmc. d'aria) e tappate ermeticamente con buoni tappi di sughero nuovi.

### Peso specifico.

Il peso specifico del vino si determina, nei casi ordinari, con la bilancia di Westphal, campionata con pnenometro, mantenendo il vino, durante la determinazione, alla temperatura di 15° C. Per ricerche più rigorose e di controllo, si determina la densità per mezzo del pnenometro.

### Alcool.

La determinazione dell'alcool si fa separando questo dal vino per distillazione e determinando la densità del distillato a 15° C.

Un apparecchio pratico per tale determinazione è quello costruito da Salleron, che è un comune distillatore con serpentino (fig. 260) refrigerante, ridotto in proporzioni piccolissime.

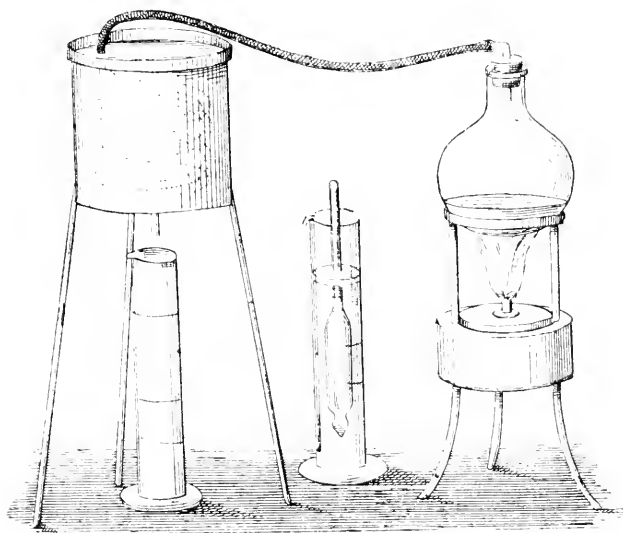


fig. 260.

Per determinare l'alcool con questo apparecchio s'introducee nella curcubita da distillazione, che può essere di vetro o di rame, un volume di

vino reso previamente neutro, misurato, con apposito cilindro di cristallo, alla temperatura di 15°.

Si congiunge la cucurbita col serpentino, nel quale si fa correre acqua fredda, si riscalda e si distilla fino ad avere una quantità di liquido eguale ai due terzi del vino messo a distillare.

Il distillato, che è stato raccolto nello stesso cilindro col quale è stato misurato il vino, si porta con acqua distillata al volume del vino messo a distillare ed in questa mescolanza si determina l'alcool con apposito alcoometro, tenendo conto della temperatura che pure si misura con apposito termometro. Qualora questa sia superiore od inferiore a 15° C., si dovrà correggere l'indicazione fornita dall'alcoometro, elevandola od abbassandola, ricorrendo alla tabella 67 oppure alla formula proposta da Guilloz, che vale tanto per le temperature inferiori, quanto per le temperature superiori a 15° C.:

$$x = N + (0,0006 N^2 + 0,068) (15 - t)$$

$$x = N - (0,0006 N^2 + 0,068) (t - 15)$$

ove  $N$  indica il grado alcoolico osservato,  $t$  la temperatura del liquido alcoolico al momento della osservazione.

Cotesta formula dà indicazioni precise per i valori di  $N$  compresi tra 3° e 20°. L'errore commesso per il coefficiente costante  $(0,0006 N^2 + 0,068)$  è sempre più piccolo di 1 centesimo di grado, e, supponendo che la differenza positiva o negativa  $15 - t$  non ecceda 5 gradi, quello che avviene comunemente, l'errore commesso è inferiore ad  $\frac{1}{20}$ .

Il metodo di determinazione dell'alcool, dianzi descritto, dà indicazioni buone qualora si abbia cura di misurare, con esattezza, il vino ed il distillato, qualora si refrigeri abbondantemente il serpentino durante la distillazione, per non fare sfuggire vapori di alcool o qualora si abbia un alcoometro esatto e capace di far leggere il mezzo grado.

Meglio che coll'alambicco di Salleron la determinazione dell'alcool nel vino si può fare nel modo seguente:

Si misurano esattamente 100 eme. di vino a 15° e si versano in un matraccio Erlenmeyer. Si neutralizza l'acidità con potassa normale ed il matraccio si congiunge con un comune refrigerante. Si riscalda, si distilla fino a raccogliere 60 eme. circa, si porta a 100 con acqua distillata e della mescolanza si determina la densità a 15° C., sia con la bilancia di Westphal, sia col pirometro. La quantità di alcool in volume per cento, si ha ricorrendo alle tabelle di Haas o di Hener.



## TAVOLA DI HAAS PER CONOSCERE LA QUANTITÀ DI ALCOOLO.

TAB. 68

Densità a 15 C.	Alcool % in volume	Alcool per litro in peso	Alcool % in peso	Densità a 15 C.	Alcool % in volume	Alcool per litro in peso	Alcool % in peso	Densità a 15 C.	Alcool % in volume	Alcool per litro in peso	Alcool % in peso
0.99283	5.0	39.72	4.00	0.98901	8.0	63.55	6.42	0.98550	11.0	87.38	8.87
269	1	40.51	08	889	1	64.31	50	539	1	88.17	95
256	2	41.30	16	877	2	65.13	58	527	2	88.96	9.04
243	3	42.10	24	865	3	65.93	67	516	3	89.76	12
230	4	42.89	32	853	4	66.72	75	505	4	90.55	20
217	5	43.69	40	841	5	67.52	83	494	5	91.35	27
204	6	44.48	48	829	6	68.31	91	483	6	92.14	35
191	7	45.28	56	817	7	69.11	99	471	7	92.94	44
178	8	46.07	65	805	8	69.90	7.07	460	8	93.73	52
165	9	46.83	73	793	9	70.69	16	449	9	94.52	60
152	6.0	47.66	81	784	9.0	71.49	24	438	12.0	95.32	68
139	1	48.45	89	769	1	72.28	32	427	1	96.11	76
126	2	49.25	95	758	2	73.08	40	416	2	96.91	84
113	3	50.04	5.04	746	3	73.87	48	405	3	97.70	93
101	4	50.84	13	734	4	74.67	57	394	4	98.50	10.01
088	5	51.63	21	722	5	75.46	65	383	5	99.29	09
075	6	52.43	29	714	6	76.25	73	372	6	100.08	17
063	7	53.22	37	699	7	77.05	80	361	7	100.88	25
050	8	54.01	45	687	8	77.84	88	350	8	101.67	33
037	9	54.81	53	676	9	78.64	97	340	9	102.47	42
025	7.0	55.60	61	664	40.0	79.34	8.05	329	13.0	103.25	51
012	1	56.40	70	653	1	80.23	13	318	1	104.05	59
000	2	57.19	78	641	2	81.02	21	307	2	104.85	67
0.98988	3	57.99	86	630	3	81.81	29	296	3	105.64	74
975	4	58.78	94	618	4	82.61	38	286	4	106.44	83
963	5	59.57	6.02	607	5	83.40	46	275	5	107.23	91
950	6	60.37	10	595	6	84.20	55	264	6	108.03	99
938	7	61.16	19	584	7	84.99	63	253	7	108.82	11.07
926	8	61.96	27	573	8	85.79	71	243	8	109.62	16
914	9	62.75	35	561	9	86.58	79	232	9	110.41	24

Segue TAB. 68.

Densità a 15 C.	Alcool % in volume	Alcool per litro in peso	Alcool % in peso	Densità a 15 C.	Alcool % in volume	Alcool per litro in peso	Alcool % in peso	Densità a 15 C.	Alcool % in volume	Alcool per litro in peso	Alcool % in peso
0.98222	14.0	411.20	41.32	0.98002	16.1	427.89	13.05	0.97798	18.1	443.77	44.70
211	1	412.00	40	0.97992	2	428.68	13	788	2	444.57	78
200	2	412.79	49	981	3	429.47	21	778	3	445.36	86
196	3	413.59	57	474	4	430.27	30	768	4	446.15	94
179	4	414.38	65	961	5	431.06	38	758	5	446.95	15.03
169	5	415.18	73	950	6	431.86	46	747	6	447.74	42
158	6	415.97	81	940	7	432.65	54	737	7	448.54	20
148	7	416.77	89	930	8	433.45	63	727	8	449.33	28
137	8	417.56	98	920	9	434.24	71	717	9	450.13	36
127	9	418.35	106	910	17.0	435.03	79	707	19.0	450.92	44
116	15.0	419.15	14	899	4	435.83	83	697	4	451.72	52
106	4	419.94	23	889	2	436.62	98	687	2	452.51	61
095	2	420.74	21	879	3	437.42	110.04	677	3	453.30	70
085	3	421.53	39	869	4	438.21	12	667	4	454.10	78
074	4	422.33	47	858	5	439.01	21	657	5	454.89	86
064	5	423.12	55	849	6	439.80	29	647	6	455.69	95
054	6	423.91	64	838	7	440.59	37	637	7	456.48	16.03
043	7	424.71	72	828	8	441.39	45	627	8	457.28	41
033	8	425.50	80	818	9	442.18	54	617	9	458.07	20
022	9	426.30	88	808	18.0	442.98	62	607	20.0	458.86	28
012	16.0	427.09	97								

**EBULLISCOPIO DI MALLIGAND.** — Oltre al metodo per distillazione, l'alcool nel vino si può determinare mediante gli ebulliscopei od ebulliometri. Questa determinazione è fondata sul punto di ebollizione dei liquidi alcoolici-acquosi, variabile col variare delle quantità di alcool. Però i punti di ebollizione di codeste mescolanze non sono costanti come quelli di liquidi omogenei; rimangono costanti solo per alcuni minuti secondi dopo incominciata l'ebollizione. Ed è questo momento che è necessario di sorprendere per avere indicazioni precise.

L'ebulliscopio di Malligand si compone:

1° di un recipiente di ottone avente la forma di un cono rovesciato messo in comunicazione, nella sua parte inferiore, con un termosifone che attraversa un caminetto (fig. 261);

2° di un coperchio di ottone che chiude inferiormente a vite il recipiente conico. Questo coperchio porta due fori, uno centrale, più stretto, per il quale passa il termometro piegato ad angolo retto, l'altro più largo, eccentrico, destinato a ricevere l'estremità inferiore del refrigerante;

3° di un refrigerante, composto di due tubi concentrici, tra i quali si può mettere acqua fredda per far condensare i vapori che si formano nella ebollizione del liquido contenuto nella piccola caldaia;

4° di un termometro fisso, piegato ad angolo retto, con la parte orizzontale affidata ad una lamina d'ottone. Su questa lamina può muoversi, lungo il termometro, un regolo più stretto, sul quale si trovano segnati i gradi alcoolici da 0° a 20° od anche 25 ed un cursore mobile che serve per facilitare la lettura dei gradi;

5° di una lampada ad alcool, ed infine di una pipetta destinata per lo sdoppiamento del vino, in caso di bisogno.

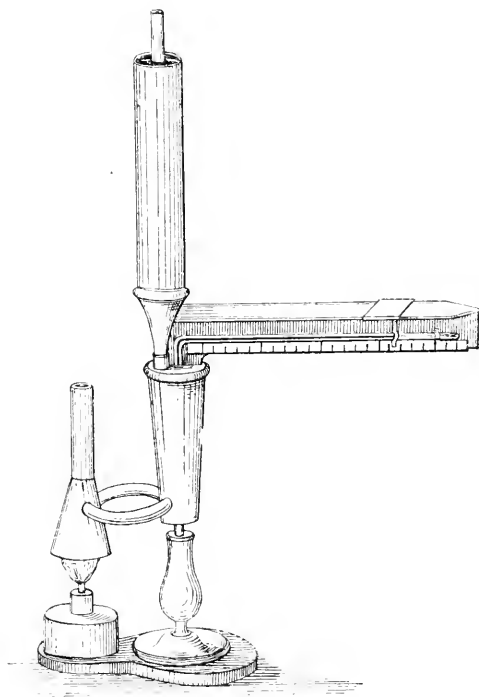


fig. 261.

Per determinare l'alcool nel vino, si procede nel modo seguente:

Si versa nel recipiente acqua distillata fino all'anello più prossimo al fondo, tre centilitri circa, si avvita il coperchio, si riscalda e si osserva

## TABELLA PER LA CORREZIONE DELLA RICCHEZZA ALCOOLICA CENTESIMAL

TAB. 69.

INDICAZIONE DEL

INDICAZIONE DEL TERMOMETRO

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
10	1.4	2.4	3.4	4.3	5.3	6.3	7.3	8.5	9.5	10.6	11.7	12.7	13.8	14.9	16.0	17.0
11	1.3	2.4	3.4	4.4	5.4	6.4	7.4	8.4	9.4	10.5	11.6	12.6	13.6	14.7	15.8	16.8
12	1.2	2.3	3.3	4.3	5.3	6.3	7.3	8.3	9.3	10.4	11.5	12.5	13.5	14.6	15.6	16.6
13	1.2	2.2	3.2	4.2	5.2	6.2	7.2	8.2	9.2	10.3	11.4	12.4	13.4	14.4	15.4	16.4
14	1.1	2.1	3.1	4.1	5.1	6.1	7.1	8.1	9.1	10.2	11.2	12.2	13.3	14.2	15.2	16.2
15	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
16	0.9	1.9	2.9	3.9	4.9	5.9	6.9	7.9	8.9	9.9	10.9	11.9	12.9	13.9	14.9	15.9
17	0.8	1.8	2.8	3.8	4.8	5.8	6.8	7.8	8.8	9.8	10.8	11.7	12.7	13.7	14.7	15.6
18	0.7	1.7	2.7	3.7	4.7	5.7	6.7	7.7	8.7	9.7	10.7	11.6	12.5	13.5	14.5	15.4
19	0.6	1.6	2.6	3.6	4.5	5.5	6.5	7.5	8.5	9.5	10.5	11.4	12.4	13.3	14.3	15.2
20	0.5	1.5	2.4	3.4	4.4	5.4	6.4	7.3	8.3	9.3	10.3	11.2	12.2	13.1	14.0	14.9
21	0.4	1.4	2.3	3.3	4.3	5.2	6.2	7.1	8.1	9.1	10.1	11.0	11.9	12.8	13.7	14.6
22	0.3	1.3	2.2	3.2	4.1	5.1	6.1	7.0	7.9	8.9	9.9	10.8	11.7	12.6	13.5	14.4
23	0.1	1.1	2.1	3.1	4.0	4.9	5.9	6.8	7.8	8.7	9.7	10.6	11.5	12.4	13.3	14.1
24	0.0	1.0	1.9	2.9	3.8	4.8	5.8	6.7	7.6	8.5	9.5	10.4	11.3	12.2	13.1	13.9
25	0.0	0.8	1.7	2.7	3.6	4.6	5.5	6.5	7.4	8.3	9.3	10.2	11.1	12.0	12.8	13.6
26	0.0	0.7	1.6	2.6	3.5	4.4	5.4	6.3	7.2	8.1	9.0	9.9	10.8	11.7	12.6	13.4
27	0.0	0.5	1.5	2.4	3.3	4.3	5.2	6.1	7.0	7.9	8.8	9.7	10.6	11.5	12.3	13.1
28	0.0	0.3	1.3	2.2	3.1	4.1	5.0	5.9	6.8	7.7	8.6	9.5	10.3	11.2	12.0	12.8
29	0.0	0.1	1.1	2.0	2.9	3.9	4.8	5.7	6.6	7.5	8.4	9.2	10.1	11.0	11.7	12.5
30	0.0	0.0	0.9	1.9	2.8	3.7	4.6	5.5	6.4	7.3	8.1	9.0	9.8	10.7	11.5	12.3

## DEI LIQUIDI SPIRITOSI DETERMINATA COLL'ALAMBICCO SALLERON

## L'COLOMETRO

17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
18.1	19.2	20.2	21.3	22.4	23.5	24.6	25.8	26.9	28.0	29.1	30.1	31.1	32.1	10
17.9	19.0	20.0	21.0	22.1	23.2	24.3	25.4	26.5	27.7	28.7	29.7	30.7	31.7	11
17.6	18.7	19.7	20.7	21.8	22.9	24.0	25.1	26.1	27.2	28.2	29.2	30.2	31.2	12
17.4	18.5	19.5	20.5	21.5	22.6	23.7	24.7	25.7	26.8	27.8	28.8	29.8	30.8	13
17.2	18.2	19.2	20.2	21.2	22.3	23.3	24.3	25.3	26.4	27.4	28.4	29.4	30.4	14
17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	15
16.9	17.8	18.7	19.7	20.7	21.7	22.7	23.7	24.7	25.7	26.6	27.6	28.6	29.6	16
16.6	17.5	18.4	19.4	20.4	21.4	22.4	23.4	24.4	25.4	26.3	27.5	28.2	29.2	17
16.3	17.3	18.2	19.1	20.1	21.1	22.0	23.0	24.0	25.0	25.9	26.9	27.8	28.8	18
16.1	17.0	17.9	18.8	19.8	20.8	21.7	22.7	23.6	24.6	25.5	26.4	27.3	28.3	19
15.8	16.7	17.6	18.5	19.5	20.5	21.4	22.4	23.3	24.3	25.2	26.1	27.0	27.9	20
15.5	16.4	17.3	18.2	19.1	20.1	21.1	22.1	22.9	23.9	24.8	25.6	26.6	27.5	21
15.3	16.2	17.0	17.9	18.8	19.8	20.7	21.6	22.5	23.5	24.3	25.2	26.2	27.1	22
15.0	15.9	16.7	17.6	18.5	19.4	20.3	21.3	22.2	23.1	24.0	24.9	25.8	26.7	23
14.8	15.7	16.5	17.4	18.2	19.1	20.0	21.0	21.8	22.7	23.6	24.5	25.4	26.3	24
14.5	15.4	16.2	17.1	17.9	18.8	19.7	20.6	21.5	22.4	23.2	24.2	25.1	26.0	25
14.2	15.1	15.9	16.7	17.6	18.5	19.4	20.3	21.2	22.1	22.9	23.8	24.7	25.6	26
13.9	14.8	15.6	16.4	17.3	18.2	19.1	20.0	20.8	21.7	22.6	23.5	24.3	25.2	27
13.6	14.4	15.2	16.0	16.9	17.9	18.8	19.6	20.5	21.4	22.2	23.1	23.9	24.8	28
13.3	14.1	14.9	15.7	16.6	17.5	18.4	19.3	20.2	21.0	21.8	22.7	23.6	24.4	29
13.0	13.0	14.6	15.4	16.3	17.2	18.1	19.0	19.8	20.7	21.5	22.4	23.2	24.0	30

INDICAZIONE DEL TERMOMETRO

quando la colonna termometrica rimane fissa. Allora si fa scorrere il piccolo regolo in modo che lo zero corrisponda precisamente all'estremo della colonna mercuriale. Questa operazione ha per oggetto di determinare il punto di ebollizione dell'acqua alla pressione barometrica del momento, ovvero di determinare il punto zero *alcool*.

Si svita il coperchio, afferrandolo sempre nella parte superiore e mai per la branca orizzontale, per non rompere il termometro, si toglie l'acqua e si lava il recipiente con un po' di vino che deve servire all'esperienza. Poi si versa il vino fino all'anello superiore, si chiude e si dispone l'apparecchio nel modo detto dianzi. Si riscalda nuovamente e quando la colonna termometrica è ferma, si legge il grado alcoolico segnato sul regolo graduato e corrispondente all'altezza della colonna mercuriale. E si ha così direttamente la quantità di alcool in volume per 100 di vino.

Coll'ebulliscopio di Malligand, si determina l'alcool nel vino con rapidità ed esattezza, poichè, secondo Thénard, l'errore massimo che si commette con cotesto apparecchio è di un sesto di grado e l'errore medio è di un centesimo di grado sempre in più. Le sostanze fisse, contenute nel vino, non influenzano sensibilmente il punto di ebollizione; però è consigliabile che i vini liquorosi e quelli che non hanno finito di fermentare, siano diluiti sufficientemente, per non avere indicazioni erronee.

Il professore Cossa, sperimentando comparativamente l'ebulliscopio di Malligand ed il metodo areometrico, conclude che le differenze tra le determinazioni eseguite coi due metodi sono piccolissime.

Quindi, anche l'ebulliscopio di Malligand deve entrare nel novero degli apparecchi con i quali si può determinare l'alcool nel vino con una esattezza abbastanza grande, quando si operi convenientemente.

### Estratto secco.

L'estratto secco, nei vini che ne contengono fino a 30 gr. per litro, si determina nel modo seguente: 50 cmc. di vino, misurati a 15° C., si mettono in una capsula di platino, larga, nella parte superiore, 85 mm., alta 20 mm., capace di 75 cmc. e del peso di 20 gr. circa. La capsula si mette su di un bagnomaria bollente in un anello che abbia un diametro di 60 mm., si fa evaporare sino a che l'estratto abbia acquistata consistenza sciropposa. Per questa operazione, sono necessari 40 minuti circa: dopo questo tempo, si osserva continuamente il progresso della evaporazione e si ha cura, quando l'estratto scorre difficilmente, di distenderlo in tutta la capsula con adeguati movimenti, affinchè l'estratto offra all'aria una superficie sempre nuova. Ciò si fa fino alla fine della evaporazione, la quale è raggiunta quando, per il movimento della capsula, l'estratto si riunisca in una goccia e scorra difficilmente. Allora si asciuga la capsula esternamente e si mette in una stufa ad acqua bollente, dove si tiene 2 ore e mezzo. La capsula nella stufa deve essere aperta e, quando è passato il tempo stabilito, si copre col coperchio, con un vetro o con un pezzo di mica e si porta in un essiccatore ove si fa raffreddare e si pesa.

I vini che contengono più di 30 gr. di estratto devono essere diluiti, con acqua distillata, fino ad una cifra inferiore a 30 gr. La determinazione si fa come è stato detto di sopra, solo la quantità di estratto deve essere aumentata proporzionalmente alla diluizione del vino.

L'estratto nei vini può essere determinato, per via indiretta, nel modo seguente: 100 cme. di vino si mettono in una capsula di porcellana e si riscaldano in bagnomaria fino a che siasi evaporato tutto l'alcool. Dopo raffreddamento, il residuo si riporta al volume primitivo con acqua distillata e della mescolanza si determina la densità a 15° C. Per mezzo della tabella 70, si arriva a conoscere la quantità di estratto contenuto nel vino.

Nessler ha trovato che il metodo indiretto è molto attendibile, poichè in 5 vini la differenza per cento tra questo ed il metodo ponderale ha oscillato tra 0,3 e 0,36.

Contuttociò, la determinazione dell'estratto nei vini deve esser fatta sempre per via ponderale e si ricorrerà alla via indiretta quando si abbiano vini contenenti molto zucchero. Nessler raccomanda, per questa determinazione, di servirsi della tabella di Schultze-Ostermann.

#### Acidità totale.

L'acidità totale si determina mettendo 50 cme. di vino in un bicchiere, agitando fortemente, per scacciare la maggior parte di anidride carbonica e neutralizzando con potassa normale. Per conoscere esattamente il punto di neutralizzazione, si impiega la carta di tornasole sensibile, di colore viola (1) e si aggiunge potassa fino a che il liquido reagisca acido. L'acidità si calcola in acido tartarico, sapendo che ad 1 cme. di potassa N/ corrispondono gr. 0,075 di acido tartarico.

#### Acidità volatile e fissa.

La determinazione dell'acidità volatile si eseguisce mediante distillazione del vino in corrente di vapore. Si mettono 50 cme. di vino in un palloncino a fondo sferico della capacità di 250 a 300 cme. munito di tappo a due fori, per uno dei quali passa un tubo di vetro del diametro di 7 mm. circa, piegato ad angolo retto e che arriva fin presso al fondo del palloncino, per l'altro, passa un tubo a sviluppo con bolla di sicurezza, unito ad un refrigerante, sotto al quale si pone un matraccio di 300 cme. circa (fig. 262).

Si distilla prima senza la corrente di vapore fino a che il volume del vino sia ridotto ad un terzo, poi, per mezzo di un tubo di gomma, si congiunge il pallone da distillazione con un generatore di vapore e si continua

(1) Le carte di tornasole bleu si preparano o con l'acido azolitnico o col comune tornasole in pasta. Si scioglie questo nell'acqua e si acidula la soluzione con acido solforico diluito fino a che si è ottenuta una colorazione rosso-sanguigna cupa. La carta da filtro bagnata in questa soluzione, acquista col prosciugamento un colore violaceo. Se si faccia uso dell'acido azolitnico, si opera nel modo seguente: si sciolgono gr. 0,2 dell'acido polverizzato in una capsula di porcellana di circa 500 cme. di capacità, in 250 cme. di acqua distillata bollente, indi si aggiungono cme. 1,25 di soluzione normale di potassa caustica. Nella soluzione così ottenuta, si bagnano delle strisce di carta Schleicher e Schüll n. 595, che si fanno asciugare nella oscurità. Le carte devono avere un colore bleu-violaceo.

a distillare fino a che il liquido che distilla dia reazione acida alle carte di tornasole. Secondo Möslinger, per avere risultati concordanti, il tubo da

cui esce il distillato deve avere un lume non maggiore di 1 mm. e la fiamma deve essere regolata in modo da distillare 200 cmc. di liquido in 50 minuti colla tolleranza di 5 minuti.

Il distillato si titola con soluzione  $N/_{10}$  di potassa caustica fino a colorazione rossa decisa della fenolfaleina, si detraggono 0,3 cmc. di alcali  $N/_{40}$  (Glaser), e l'acidità si calcola in acido tartarico, sapendo che ad 1 cmc. di potassa ne corrispondono gr. 0,0075, oppure in acido acetico, sapendo che ad 1 cmc. di potassa  $N/_{10}$  ne corrispondono gr. 0,006.

Questo metodo di determinazione degli acidi volatili è difettoso, perchè ci dà contemporaneamente gli acidi volatili liberi e combinati (Morpurgo, Curtel). Migliori risultati sembra che dia il metodo indiretto. 25 cmc. di vino si mettono in un piccolo matraccio, si mescolano con 25 cmc. di acqua e si riscaldano in bagno di sabbia, mentre, attraverso il liquido, si fa passare una corrente di vapor d'acqua, privo di anidride carbonica. I vapori che escono dal matraccio non si condensano, ma si fanno sperdere nell'atmosfera e ciò continuamente per un'ora, regolando il riscaldamento del bagno in modo da non alterare il volume del liquido.

Dopo ciò, si titola l'acidità residua del vino, la quale si sottrae dall'acidità totale e si ottiene l'acidità volatile.

Un vino bianco si può considerare che *sputi* quando contenga più di gr. 0,09 di acidi volatili, per cento, calcolati in acido acetico; un vino rosso, al contrario, quando ne contenga più di 0,12.

Un vino bianco si considererà *acido* quando contenga più di 0,12  $^{\circ}$  di acidi volatili, ed un vino rosso quando ne contenga più di 0,16  $^{\circ}$ .

L'acidità fissa si determina detraendo dall'acidità totale l'acidità volatile.

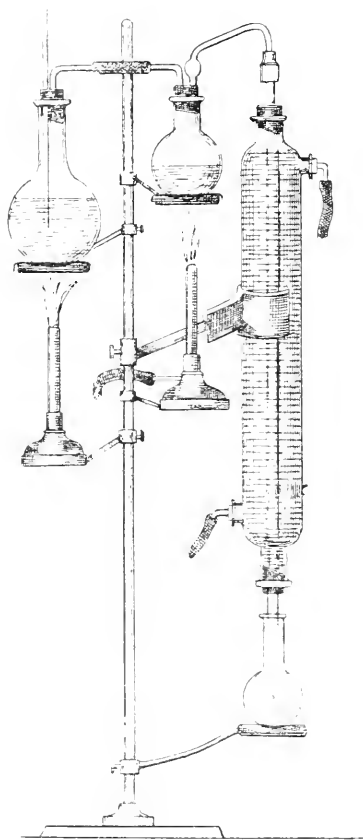


fig. 262.



### Determinazione dell'acido tartarico totale.

100 cmc. di vino si mettono in un becher, si mescolano con 2 cmc. di acido acetico, con 3 gocce di una soluzione di acetato di potassio 20 % e con 15 gr. di cloruro di potassio in polvere. Si mescola più volte per far disciogliere il cloruro di potassio, poi si aggiungono 15 cmc. di alcool 90 %; si strofina, con una bacchetta di vetro, per un minuto ininterrottamente, sulle pareti del becher e si lascia in riposo per 15 ore alla temperatura dell'ambiente. Il precipitato di bitartrato di potassio si raccoglie su di un filtro, si lava con una mescolanza di 15 gr. di cloruro di potassio, 20 cmc. di alcool 95 % e 100 cmc. di acqua, non più di tre volte, impiegandone in tutto una ventina di cmc., poi si scioglie il precipitato con acqua distillata bollente e la soluzione si raccoglie nel becher. Quando la soluzione è completa, si porta all'ebollizione e se ne determina l'acidità con alcali  $N/2$ , servendo da indicatore la carta viola sensibile di tornasole. La quantità di acido tartarico si calcola sommando al numero di centimetri cubi di alcali impiegato, 0,6, per compensare il cremore disciolto e perduto, e moltiplicando per 0,0375.

### Determinazione dell'acido tartarico libero.

50 cmc. di vino si fanno evaporare in capsula di platino ed il residuo si incinera accuratamente. La cenere si mescola con 20 cmc. di soluzione  $N/2$  di acido cloridrico, 20 cmc. di acqua distillata e si riscalda fino ad incipiente ebollizione. Il liquido caldo si titola con alcali  $N/2$ , servendo da indicatore la carta sensibile violetta di tornasole.

Sia  $a$  il numero di cent. cubi di vino impiegati e  $b$  il numero di cent. cubi di alcali  $N/2$  consumati nella titolazione; il vino contenga inoltre  $c$  gr. di acido tartarico totale in 100 cmc., l'acido tartarico in 100 cmc. di vino sarà dato dalla formola seguente:

$$x = c - \frac{3,75(20-b)}{a}$$

se  $a$  sia eguale a 50,  $x = c + 0,075b - 1,5$ ;

se  $a$  sia eguale a 25,  $x = c + 0,15b - 3$ .

### Determinazione del bitartrato di potassio.

50 cmc. di vino si fanno evaporare in capsula di platino ed il residuo si incinera accuratamente. La cenere si lisciva con acqua calda; il prodotto della liscivazione si filtra; e si lava più volte la capsula ed il filtro con acqua calda. Il filtrato si unisce con 20 cmc. di acido cloridrico  $N/2$  e si riscalda fino all'ebollizione. La soluzione calda si titola con alcali  $N/2$ , col l'impiego di carta violetta sensibile di tornasole.

Sia  $d$  il numero di cmc. di vino impiegato,  $e$  il numero di cmc. di alcali  $N/2$ , che hanno servito per la titolazione,  $c$  i gr. di acido tartarico totale in 100 cmc. di vino, si calcola il bitartrato di potassio  $n$  colla formola seguente:

$$n = 26,67c - \frac{100(20-e)}{d}$$

Se  $n$  sia eguale a  $c$  o negativo, tutto l'acido tartarico si trova nel vino in forma di bitartrato, cioè sarà:

$x = 1,2533c$  gr. di bitartrato di potassio in 100 cmc. di vino;

se  $n$  sia positivo, sarà:

$x = \frac{4,7(20-e)}{d}$  gr. di bitartrato di potassio in 100 cmc. di vino.

### Determinazione dell'acido tartarico combinato colle terre alcaline.

La quantità di acido tartarico combinato colle terre alcaline si calcola dalla quantità di acido tartarico libero e del bitartrato di potassio:

sia  $n$  eguale a  $c$  oppure negativo, l'acido tartarico combinato alle terre non esiste nel vino;

sia  $n$  positivo, la quantità di acido tartarico combinato alle terre in 100 cmc. di vino si calcola colla formola seguente:

$$x = \frac{2,75(c-b)}{d}$$

TABELLA PER DETERMINARE L'ESTRATTO DALLA DENSITÀ  
SECONDO SCHULTZE-OSTERMANN.

TAB. 70.

Densità	Estratto		Densità	Estratto		Densità	Estratto	
	in 100 g di vino	in 100 cmc. di vino		in 100 g di vino	in 100 cmc. di vino		in 100 g di vino	in 100 cmc. di vino
1.0039	1.02	1.02	1.0068	1.77	1.78	1.0097	2.51	2.53
1.0040	1.05	1.05	1.0069	1.79	1.80	1.0098	2.53	2.55
1.0041	1.08	1.08	1.0070	1.82	1.83	1.0099	2.56	2.59
1.0042	1.10	1.10	1.0071	1.84	1.85	1.0100	2.58	2.61
1.0043	1.13	1.13	1.0072	1.87	1.88	1.0101	2.61	2.64
1.0044	1.15	1.16	1.0073	1.90	1.91	1.0102	2.64	2.67
1.0045	1.18	1.19	1.0074	1.92	1.93	1.0103	2.66	2.69
1.0046	1.21	1.22	1.0075	1.95	1.96	1.0104	2.69	2.72
1.0047	1.23	1.24	1.0076	1.97	1.98	1.0105	2.71	2.74
1.0048	1.26	1.27	1.0077	2.00	2.02	1.0106	2.74	2.77
1.0049	1.29	1.30	1.0078	2.02	2.04	1.0107	2.76	2.79
1.0050	1.31	1.32	1.0079	2.05	2.07	1.0108	2.79	2.82
1.0051	1.34	1.35	1.0080	2.07	2.09	1.0109	2.82	2.85
1.0052	1.36	1.37	1.0081	2.10	2.12	1.0110	2.84	2.87
1.0053	1.39	1.40	1.0082	2.12	2.14	1.0111	2.87	2.90
1.0054	1.41	1.42	1.0083	2.15	2.17	1.0112	2.89	2.92
1.0055	1.44	1.45	1.0084	2.17	2.19	1.0113	2.92	2.95
1.0056	1.46	1.47	1.0085	2.20	2.22	1.0114	2.94	2.97
1.0057	1.49	1.50	1.0086	2.23	2.25	1.0115	2.97	3.00
1.0058	1.51	1.52	1.0087	2.25	2.27	1.0116	2.99	3.02
1.0059	1.54	1.55	1.0088	2.28	2.30	1.0117	3.02	3.06
1.0060	1.56	1.57	1.0089	2.30	2.32	1.0118	3.05	3.09
1.0061	1.59	1.60	1.0090	2.33	2.35	1.0119	3.07	3.11
1.0062	1.62	1.63	1.0091	2.35	2.37	1.0120	3.10	3.14
1.0063	1.64	1.65	1.0092	2.38	2.40	1.0121	3.12	3.16
1.0064	1.67	1.68	1.0093	2.41	2.43	1.0122	3.15	3.19
1.0065	1.69	1.70	1.0094	2.43	2.45	1.0123	3.17	3.21
1.0066	1.72	1.73	1.0095	2.46	2.48	1.0124	3.20	3.24
1.0067	1.74	1.75	1.0096	2.48	2.50	1.0125	3.23	3.27

Segue TAB. 70.

Densità	Estratto		Densità	Estratto		Densità	Estratto	
	in 100 g di vino	in 100 cmc di vino		in 100 g di vino	in 100 cmc. di vino		in 100 g di vino	in 100 cmc. di vino
1.0426	3.25	3.29	1.0448	3.82	3.88	1.0470	4.39	4.46
1.0427	3.28	3.32	1.0449	3.85	3.91	1.0471	4.42	4.50
1.0428	3.30	3.34	1.0450	3.87	3.94	1.0472	4.44	4.52
1.0429	3.33	3.37	1.0451	3.90	3.96	1.0473	4.47	4.55
1.0430	3.35	3.39	1.0452	3.92	3.98	1.0474	4.50	4.58
1.0431	3.38	3.42	1.0453	3.95	4.01	1.0475	4.53	4.61
1.0432	3.41	3.46	1.0454	3.97	4.03	1.0476	4.55	4.63
1.0433	3.43	3.48	1.0455	4.00	4.06	1.0477	4.58	4.66
1.0434	3.46	3.51	1.0456	4.03	4.09	1.0478	4.61	4.69
1.0435	3.48	3.53	1.0457	4.05	4.11	1.0479	4.63	4.71
1.0436	3.51	3.56	1.0458	4.08	4.14	1.0480	4.66	4.74
1.0437	3.54	3.59	1.0459	4.10	4.17	1.0481	4.69	4.77
1.0438	3.56	3.61	1.0460	4.13	4.20	1.0482	4.71	4.80
1.0439	3.59	3.64	1.0461	4.16	4.23	1.0483	4.74	4.83
1.0440	3.61	3.66	1.0462	4.18	4.25	1.0484	4.77	4.86
1.0441	3.64	3.69	1.0463	4.21	4.28	1.0485	4.79	4.88
1.0442	3.66	3.71	1.0464	4.23	4.30	1.0486	4.82	4.91
1.0443	3.69	3.74	1.0465	4.26	4.33	1.0487	4.85	4.94
1.0444	3.72	3.77	1.0466	4.28	4.35	1.0488	4.88	4.97
1.0445	3.74	3.79	1.0467	4.31	4.38	1.0489	4.90	4.99
1.0446	3.77	3.83	1.0468	4.34	4.41	1.0490	4.93	5.02
1.0447	3.79	3.85	1.0469	4.36	4.43			

## Zuccheri.

DETERMINAZIONE DEGLI ZUCCHERI RIDUTTORI. — Gli zuccheri riduttori si possono determinare col metodo Fehling-Soxhlet.

*Metodo Fehling-Soxhlet.* — Si neutralizzano 100 cmc. di vino con soluzione di soda o potassa N/ e si fanno bollire, per scacciare l'alcool, fino all'evaporazione di  $\frac{1}{3}$ . Si fanno raffreddare e si aggiunge, a poco a poco, agitando, dell'acetato basico di piombo fino a scolorazione. Si filtra e si lava per decantazione prima, poi sul filtro e nel filtrato si precipita l'eccesso di ace-

tato di piombo con una soluzione satura di carbonato di sodio, si filtra nuovamente, si lava ed il filtrato si porta a 100 emc.

Si versano 25 emc. di soluzione di solfato di rame (1) in una capsula di porcellana emisferica e poscia altri 25 emc. di soluzione di sale di Seignette. Si porta all'ebollizione e si fa colare, a poco a poco, da una buretta il vino decolorato fino a che dopo due minuti di ebollizione non si scorga più il colore azzurro. Con questa prova, si conosce approssimativamente la ricchezza zuccherina del liquido e se essa vada al disopra dell'1 %, il liquido si diluisce fino alla quantità detta, tenendo conto della diluizione. Generalmente, non si ha bisogno di fare cotesta diluizione, perchè i vini o contengono l'1 % o una quantità inferiore di zuccheri riduttori.

Operata o no la diluizione, si mettono nuovamente in una capsula di porcellana 25 emc. di soluzione di solfato di rame e 25 emc. di soluzione di sale di Seignette; si porta all'ebollizione, vi si versa la quantità di vino decolorato, che si calcola necessaria, per la completa decolorazione del liquido di Fehling, si fa bollire per due minuti e rapidamente si filtra per filtro a pieghe. Il filtrato si acidifica con acido acetico e si tratta con alcune gocce di soluzione di ferro cianuro di potassio; se si ha colorazione od intorbidamento rossastro, vuol dire che vi è ancora del rame in soluzione e quindi, in un altro saggio, si deve versare una quantità maggiore di vino: se invece non si formi colorazione od intorbidamento, nella prova successiva si aggiungerà meno vino. Si fa così una serie di determinazioni, fino a che la differenza fra la quantità di vino adoperata nelle ultime due, non superi emc. 0,1 e si abbia in una la reazione del rame, in un'altra non. Generalmente, ai bene esercitati bastano 4 o 5 prove ed anche meno per trovare la quantità precisa.

Siccome 50 emc. di liquido di Fehling corrispondono a gr. 0,2375 di destrosio, il numero di emc. di vino adoperato, per la riduzione, contengono cotesta quantità di zucchero riduttore. Con una semplice proporzione, tenendo conto della diluizione se fu operata, se ne trova la quantità per litro.

**DETERMINAZIONE DELLO ZUCCHERO DI CANNA.** — Lo zucchero di canna si determina nel modo seguente: 50 emc. di vino dealcolizzato e depurato nel modo detto di sopra, si trattano con 5 emc. di una soluzione di acido cloridrico 1 % e si riscaldano in bagnomaria per mezz'ora. Si neutralizza l'acido e si procede alla determinazione degli zuccheri riduttori nel modo detto dianzi. La differenza tra la quantità di questi, trovata prima e dopo inversione, moltiplicata per 0,95 dà la quantità di saccarosio.

Cotesta quantità deve essere espressa in gr. per litro.

**POLARIZZAZIONE.** — Il saggio polarimetrico deve esser fatto in tubi di 200 mm. di lunghezza:

1° sul vino privato di alcool, defecato e spiombato con fosfato di soda (2);

(1) Per la preparazione del liquido di Fehling, vedi latte.

(2) Borntraeger ha proposto di adoperare, per la spiombatura, il fosfato di sodio, poiché il carbonato non toglie tutto il piombo ed altera gli zuccheri, in modo da far diminuire, dopo un certo tempo, il potere rotatorio.

2° sul vino privato di alcool, defecato e spiombato, dopo inversione;

3° sul vino privato di alcool, defecato e spiombato, dopo fermentazione provocata da un fermento puro.

Il risultato delle osservazioni polarimetriche si esprimerà in gradi Wild.

### Glicerina.

La glicerina si determina, seguendo il metodo indicato da Lecco. 10 emc. di vino si mescolano con gr. 0,1 di calce spenta in polvere, 10 gr. di sabbia e si evaporano in bagnomaria fin quasi a secchezza. Il residuo si estrae 4 o 5 volte con alcool assoluto caldo e l'alcool si filtra raccogliendolo in una bottiglia. Si ottengono così 40 o 50 emc. di filtrato, che si evapora in bagnomaria fino a consistenza sciropposa. Il residuo si ridiscioglie con 5 emc. di alcool assoluto e 7,5 emc. di etere; si chiude ermeticamente la bottiglia e si lascia in riposo per alcune ore. La soluzione alcoolico-eterea limpida si versa in un recipiente speciale alto 75 mm. e con collo largo 30 mm., pesato pulito e secco, insieme ai lavaggi, fatti con una soluzione simile; si fa evaporare in bagnomaria fino a consistenza di sciroppo; si fa seccare il residuo in stufa a 100°, coprendo il recipiente con un piccolo cappuccio di cristallo sottile che fa parte del recipiente sopra nominato, per il quale sfugge l'acqua ma non la glicerina ed ivi si tiene per 5 ore; si fa freddare in essiccatore e si pesa [Benz (1)].

I risultati ottenuti con questo metodo sono molto soddisfacenti.

Coi vini dolci, aumentando la quantità di calce ad 1 gr. per 10 emc. si ottiene una glicerina priva di zucchero.

### Ceneri.

La determinazione delle ceneri nei vini secchi, si fa incinerando l'estratto, preparato nel modo che si è detto a suo luogo, esponendo la capsula alla fiamma diretta di un becco Bunsen, la quale fiamma sarà alta fino a che le materie organiche siano completamente bruciate. sarà bassa, sino al punto da arroventare debolmente la capsula, fino a che il carbone sia completamente scomparso. Si deve evitare, in tutti i modi, la fusione delle ceneri.

Nei vini dolci, la determinazione si fa incinerando l'estratto di 50 emc. di vino, estraendo ripetutamente con acqua il residuo carbonoso, bruciando il carbone completamente con fiamma piuttosto alta e nella stessa capsula facendo evaporare in bagnomaria, la soluzione delle sostanze asportate coi lavaggi. Si calcina con precauzione, al rosso scuro, poi, dopo raffreddamento, si aggiunge qualche goccia di una soluzione satura di carbonato di ammonio; si porta nuovamente a secco, si riscalda al rosso, si fa raffreddare in essiccatore e si pesa.

Si deve esplorare sempre la reazione delle ceneri, sciolte nell'acqua, per conoscerne la reazione, la quale deve sempre essere alcalina e deve fare effervescenza cogli acidi, nei vini naturali.

(1) *Zeitschr. anal. Ch.*, Vol. 38, p. 436.

## SUNTO DELLA COMPOSIZIONE CHIMICA DEI VINI D'ITALIA.

TAB. 71.

Alcool % in volume	Numero dei campioni di vino		Estratto secco in gr. per litro	Numero dei campioni di vino		Acidità totale in acido tartarico gr. per litro	Numero dei campioni di vino		C e n e r i in gr. per litro	Numero dei campioni di vino		Rapporto fra alcohol in peso (fatto eguale 100) e la glicerina	Numero dei campioni di vino	
	Rosso	Bianco		Rosso	Bianco		Rosso	Bianco		Rosso	Bianco			
da 4 a 5	5	2	da 10 a 12	2	2	da 3 a 4	48	9	di 4.30	23	42	da 4.00 a 5.00	4	9
» 5 » 6	21	6	» 12 » 14	29	35	» 4 » 5	396	276	da 4.30 a 4.50	36	55	» 5.00 » 5.50	9	31
» 6 » 7	73	26	» 14 » 16	135	93	» 5 » 6	1335	704	» 4.50 » 2.00	313	278	» 5.50 » 6.00	21	63
» 7 » 8	207	51	» 16 » 18	376	475	» 6 » 7	2084	833	» 2.00 » 2.50	635	656	» 6.00 » 6.50	56	49
» 8 » 9	429	143	» 18 » 20	673	438	» 7 » 8	1638	383	» 2.50 » 3.00	418	327	» 6.50 » 7.00	101	491
» 9 » 10	751	222	» 20 » 22	915	452	» 8 » 9	734	435	» 3.00 » 3.50	322	424	» 7.00 » 7.50	153	245
» 10 » 11	1068	389	» 22 » 24	948	435	» 9 » 10	275	47	» 3.50 » 4.00	489	58	» 7.50 » 8.00	187	187
» 11 » 12	1276	622	» 24 » 26	852	294	» 10 » 11	414	20	» 4.00 » 4.50	114	21	» 8.00 » 8.50	139	455
» 12 » 13	4718	561	» 26 a 28	677	208	» 11 » 12	50	6	» 4.50 » 5.00	70	46	» 8.50 » 9.00	71	97



## Sofisticazioni del vino.

Il vino può essere sofisticato o per aggiunta di acqua o di altre sostanze che possono fare acquistare al vino proprietà commerciali delle quali mancava, come materie coloranti estranee, zucchero, saccarina, dulcina, sale, allume, alcool; o per aggiunta di sostanze che possono conservare lungamente il vino anche se tenuto in luogo non adatto, come gesso, acido salicilico, abrastol, fluoruri, ecc.

### Annacquamento.

L'annacquamento del vino si può scoprire determinando l'estratto, il quale, nei vini naturali, va al disotto di gr. 1,50 % soltanto nel caso che essi provengano da uve peronosporate od, in generale, non mature. In questi casi, la quantità di alcool è molto piccola, l'acidità, al contrario, molto elevata (1); ed il residuo d'estratto, che si ottiene detraendo dall'estratto gli acidi liberi, va anche sotto gr. 1,0 %, vale a dire sotto alla cifra ritenuta come minima, non escludendo però che anche vini normali diano un residuo inferiore ad 1 (Paris). Si capisce facilmente che nei vini che contengono più di gr. 0,1 % di zucchero tanto l'estratto, quanto il residuo d'estratto devono essere molto superiori alle quantità dette di sopra.

Anche la quantità delle ceneri può dare indicazioni utili per giudicare dell'annacquamento del vino, poichè essa, nei vini naturali, va raramente sotto gr. 0,14 in 100 cme.

Inoltre, nei vini naturali e non acetificati la somma alcool in volume ed acidità, calcolata in acido tartarico per litro, oscilla tra 18 e 23 (De Cillis); calcolata in acido solforico, è uguale o superiore a 12,5 (Gautier).

Infine, i vini annacquati, generalmente, contengono acido nitrico; mentre i vini puri, quelli ottenuti annacquando i mosti ed i vini annacquati che spuntano non ne contengono affatto (Leone e Seifert). Quindi, trovando acido nitrico in un vino, nella maggioranza dei casi, si potrà concludere che sia stata ad esso aggiunta acqua, specialmente quando altri dati confortino questa conclusione. Si deve tener conto, in tutti i casi, delle circostanze, nelle quali un po' di acqua può arrivare nel vino per accidentalità e senza lo scopo di frodare, come per la lavatura delle botti e delle bottiglie.

L'acido nitrico si ricerca nel modo seguente:

Si mettono in una capsula di porcellana 100 cme. di vino, si aggiunge loro un eccesso di calce caustica e si evapora in bagnomaria fino a secchezza. Il residuo si stacca dalle pareti della capsula, meglio che è possibile, si tratta con 30 cme. di alcool 92-95 %, si agita e dopo 10 minuti si filtra, raccogliendo il filtrato in capsuletta di porcellana, e si fa evaporare in bagnomaria. Al residuo si aggiunge 1 cme. di acqua distillata, si agita ed

(1) Da questo caso vanno esclusi i vini che spuntano o che contengono una quantità forte di acidi volatili.



una porzione si fa cadere cautamente sulla soluzione solforica di difenilammina. Se si ottenga una colorazione ben intensa, si allunga con acqua il liquido residuo e si ripete la prova, il risultato della quale potrà farci acquistare anche un criterio sulla quantità approssimativa di nitrati contenuti nel vino.

Piccole quantità di acido nitrico si ricercano nel modo seguente:

Si riscalda il vino in bagnomaria fino ad eliminazione completa dell'alcool; il residuo, ancora caldo, si versa in un matraccio e si tratta con 8 gr. di polvere di zinco. Si lascia in riposo per mezz'ora e si distilla fino a raccogliere 10 emc. di liquido. Con questo trattamento, l'acido nitrico si trasforma in acido nitroso e questo passa nel distillato ove si potrà ricreare per mezzo della reazione di Griess. (Vedi Acqua).

Infine, i vinelli, i vini tagliati coi vinelli ed annacquati, contengono una quantità di acido tartarico combinato alle terre che è inferiore a gr. 0,1 per 100 emc. di vino (Fresenius W. e Grünhut).

### Vini rossi. Materie coloranti estranee.

In commercio, i vini più apprezzati sono i rossi; perciò quando le uve non sono capaci di impartire al vino un bel colorito smagliante, oppure quando si voglia far diventare rosso un vino bianco, si usa aggiunger loro sostanze coloranti estranee o derivate dal catrame oppure derivate dal regno vegetale. Tra le prime dobbiamo noverare la *fucsina*, la *solfofucsina*, gli *azocolori*, chiamati in commercio *rinoline*; tra le seconde dobbiamo noverare soprattutto le *bacche del sambuco arboreo* e le *bacche del sambuco erbaceo*.

RICERCA DELLA FUCSINA. — Si mette il vino da esaminare in un agitatore, si alcalinizza con potassa o con soda e si lascia in riposo per qualche minuto. Si aggiunge etere, si dibatte fortemente, si lascia in riposo e quando l'etere si è completamente separato, si apre la chiavetta dell'agitatore e si fa uscire tutto il vino. L'etere si versa in una capsula di porcellana, vi si immergono alcuni fili di cotone e si fa evaporare in bagnomaria. La rosanilina, che, per azione degli alcali, si è separata dall'acido cloridrico allo stato incolore, si fissa sul cotone e riacquista il colore primitivo.

Quando si sospetti che il vino sia stato colorato con fucsina, è necessario di esaminare non solo il vino, ma il deposito del vino nel quale può trovarsi la fucsina allo stato insolubile. E ciò si fa scaldando lungamente il deposito con acqua ammoniacale, filtrando e trattando il filtrato nel modo detto di sopra.

RICERCA DELLE MATERIE COLORANTI AZOICHE. — *Metodo di Arata*. — Si mettono 50 emc. di vino in una capsula di porcellana, si aggiungono 5 emc. di una soluzione 10 % di bisolfato di potassio (1), vi si immergono alcuni fili di lana bianca sgrassata e si fa bollire per 10 minuti. La materia colorante,

(1) Invece del bisolfato di potassio, si può sostituire, senza inconvenienti, qualche goccia di acido cloridrico.

in queste condizioni, si fissa sulla lana, la quale acquista un bel colorito rosso, più o meno intenso a seconda che abbia fissato la materia colorante derivata dal catrame oppure quella naturale del vino.

Per caratterizzare ora la materia colorante fissata dalla lana si opera nel modo seguente: si estrae la lana dalla capsula di porcellana; si lava ripetutamente con acqua comune e si mette in un piattellino di porcellana nel quale trovasi dell'acqua leggermente ammoniacale.

Se il colorito della lana passi dal rosso al verde, vuol dire che la materia colorante fissata è naturale o una materia colorante estranea vegetale; se il colorito della lana rimanga senza alterazione, vuol dire che la materia colorante è un bordeaux, una vinolina, od un azocolore; se il colorito della lana scompare completamente o quasi, vuol dire che la materia colorante è fucsina o solfocucsina: se passi al viola, Orseille.

Nel caso che un vino rosso debole sia stato colorito con un azocolore, la lana, nel trattamento ammoniacale, assume una tinta indecisa tra il verde ed il rosso, che può dar luogo ad interpretazioni dubbie. In questo caso, i fili di lana si lavano con soluzione diluita di acido tartarico o di acido cloridrico, per allontanare la materia colorante naturale del vino, fino a che si abbiano liquidi scolorati; si asciuga tra carta bibula, si mette sopra un vetro da orologio e vi si fa sopra gocciare acido solforico concentrato, il quale produrrà la reazione caratteristica degli azocomposti. Cioè, *rossa* per il Ponceau R, 2 R, 3 R, e 3 S, *bleu indaco*, per il Bordeaux B, R e per la Croceina, *verde scuro*, per lo scarlatto di Biebrich, *giallo o giallo arancio*, per il Ponceau S e per la Tropeolina O, *violetto*, per la Tropeolina OOO e per il Solidroth. Queste reazioni non sono certamente sufficienti per la identificazione assoluta della materia colorante colla quale è stato sofisticato il vino, bastano per indicare approssimativamente il gruppo al quale appartengono.

Qualora si voglia approfondirne maggiormente lo studio, si tratta la lana con abbondante quantità di acido solforico concentrato, si comprime con una bacchetta di vetro, e si lascia così immersa nell'acido solforico per 5 o 10 minuti. Poi si aggiungono 7 od 8 emc. di acqua, si estrae la lana, ed il liquido reso alcalino con ammoniaca, si estrae con alcool amilico. Si separa l'alcool dal liquido acquoso, si fa evaporare in bagnomaria ed il residuo si tratta con i vari reattivi indicati nella tabella 61 per identificare la materia colorante.

*Metodo Cazeneuve.* — 10 emc. di vino si trattano a freddo con 1,5 gr. di ossido di mercurio in pasta e si dibatte per un minuto. Si filtra, e se il liquido filtrato sia colorato è segno che il colore del vino non è naturale.

In alcuni vini del Piemonte, per produrre tale scolorazione, sono stati necessari da 0,5 a 1,30 gr. di ossido fangoso: perciò il metodo di Cazeneuve ha un valore molto relativo. Inoltre, dà risultati completamente erronei quando si applichi a vini rossi preparati con uve americane, od a vini tagliati con queste uve, per decolorare i quali non sono bastati 8 gr. di ossido. (Comboni).

Un filtrato chiaro, del resto, non dimostra l'assenza di materie coloranti derivate dal catrame, poichè alcuni di questi colori sono precipitati dall'os-

sido giallo di mercurio, altri sono decolorati. È bene, in ogni caso, di acidificare con acido acetico il liquido filtrato chiaro, per vedere se in esso si trovi solfofucsina. In questo caso il liquido acquisterà una bella colorazione rossa violacea.

PRINCIPALI REAZIONI DI ALCUNE SOSTANZE COLORANTI ROSSE  
DERIVATE DAL CATRAME.

TAB. 72.

NOME della materia colorante	Acido solforico concentrato	Acido solforico diluito	Acido cloridrico aggiunto alla soluzione acquosa	Soda aggiunta alla soluzione acquosa
Fucsina . . . . .	giallo bruno	quasi scolor.	gialla	scolorata
Solfofucsina , . . .	gialla	rosso debole	nessun cambiamento	id.
Ponceau R. . . . .	rosso ciliegia	giallo rossastro	id.	nessun cambiamento
Ponceau S. . . . .	bleu	giallo rossastro	quasi inalterato	precipit. vio- letto solubile in eccesso di acqua
Bordeaux B. . . . .	bleu	rosso fucsina	inalterato	giallo bruno
Bordeaux extra. . .	violetto	precipitato violetto	precipitato violetto	giallo
Croceina B. . . . .	violetto	precip. rosso violetto	id.	violetto
Scarlatta Biebrich. .	verde	bleu poi precipit.	precipitato rosso	precipitato bruno
Tropeolina. . . . .	giallo	giallo ross.	nessun cambiamento	rosso scuro
Congo . . . . .	bleu	precip. bleu	precip. bleu	precipitato rosso bruno
Amaranto . . . . .	violetto	rosso fucsina	immutato	bruno
Benzoporporina. . .	bleu	precip. bleu	precip. bruno	nessun cambiamento
Porpora di Hess B. .	violetto	precip. bruno	id.	precipitato rosso violaceo

*Metodo all'alcool amilico.* — 50 cme. di vino si rendono alcalini con ammoniacca e si dibattono lentamente, per 5 minuti all'incirca, con 10 cme. di alcool amilico. Si lascia in riposo, affinché l'alcool amilico abbia il tempo di separarsi completamente e si osserva se esso abbia preso colore alcuno. Se il vino sia colorato naturalmente, l'alcool amilico apparirà limpido ed incolore e rimarrà tale anche dopo separazione ed acidificazione con acido

acetico; se invece sia colorato con colori azoici esso piglierà una colorazione rosa più o meno intensa; se colorato con fucsina o solfofucsina, rimarrà incolore, ma dopo separazione ed acidificazione con acido acetico, piglierà una colorazione rossa. Si deve avvertire che coi vini provenienti da uve americane l'alcool amilico si colora in rosa nelle condizioni sopra accennate.

Recentemente è stata messa in commercio una materia colorante per il vino col nome di *Rosso di Tolosa*, che è una mescolanza di tre coloranti derivati dal catrame, un giallo, un bleu ed un rosso. Coi metodi sopra descritti difficilmente si riesce a scoprire piccole quantità di cotesta materia colorante e perciò è necessario di seguire il processo indicato da Trouchon. 50 cme. di vino si uniscono con 2 cme. di acido solforico diluito (1:10), si fanno bollire, immergendovi alcuni fili di lana sgrassata e mantenendo la ebollizione per 5 minuti. Poi si estrae la lana, si lava abbondantemente con acqua comune e si osserva il colorito preso. In presenza di rosso di Tolosa la lana sarà colorata in rosso fragola, in assenza, in rosso pallido.

### **Materie coloranti vegetali.**

Molte sembra che siano le materie coloranti vegetali, che servono a colorire il vino: da noi molto usate sono le bacche del sambuco arborco e del sambuco erbaceo.

Per conoscere se un vino sia stato colorato coll'una o coll'altra di coteste bacche si opera nel modo seguente: si mettono 5 cme. di vino in una capsulina di porcellana a fondo piano, si uniscono con 7 gocce di una soluzione di allume, satura a freddo, e con una goccia di ammoniaca. Si scalda in bagnomaria, si fa evaporare il liquido fin quasi a secchezza e, se il vino sia colorato naturalmente, si avrà un residuo bruno giallastro, se sia colorato con sambuco o sambuchella, si avrà un residuo bleu tendente al viola.

### **Vini bianchi. Materie coloranti estranee.**

I vini bianchi possono essere colorati artificialmente con caramella o con materie coloranti gialle derivate dal catrame.

#### **Caramella.**

La caramella si scopre nel modo seguente:

10 cme. di vino si versano in una stretta ed alta provetta a piede con tappo smerigliato, si uniscono con 30 o 50 cme. di paraldeide, secondo la intensità della colorazione, e con 15 o 20 cme. di alcool assoluto; si agita più volte e si lascia in riposo per 24 ore. Se il vino non contenga caramella, si ha un precipitato bianco; nel caso contrario, si ha un precipitato giallo bruno o bruno scuro, a seconda della quantità di caramella aggiunta.

Le materie coloranti gialle, derivate dal catrame, si ricercano nel modo indicato per le paste, servendosi, per la estrazione, piuttosto che della lana, della seta bianca.

### Zuccheraggio.

I vini ben fermentati contengono una quantità di zucchero molto piccola; da 0,01 a 0,1 %.

Se ad un vino sia stato aggiunto glucosio di fecola, il potere rotatorio destro è molto elevato, mentre nei vini naturali esso non va al disopra di 0,3 gradi Wild. I vini naturali che contengono ancora zucchero non fermentato hanno potere rotatorio sinistro, poichè dei due zuccheri che esistono nel mosto, destrosio e levulosio, il primo a fermentare è il destrosio.

Del resto, facendo fermentare ancora con lievito puro un vino con potere rotatorio destro, si dovrà ottenere la completa neutralità ottica, altrimenti si potrà supporre che il glucosio di fecola abbia lasciato nel vino qualche sostanza (amilina) che ha potere rotatorio destro e che non è fermentescibile.

### Saccarina.

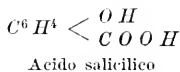
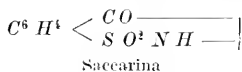
La saccarina si aggiunge al vino per comunicargli il sapore dolce. Essa non è uno zucchero, propriamente detto, ma possiede proprietà edulcorante marcatissima, anzi straordinaria, e può essere usata in sostituzione dello zucchero.

La saccarina si ricerca nel modo seguente:

200 emc. di vino si mettono in un agitatore cilindrico, si acidificano con acido solforico diluito, o con acido fosforico 10 %, si aggiungono 100 emc. di una mescolanza, a parti uguali, di etere ordinario e di etere di petrolio e si agita cautamente. Si filtra in un pallone il liquido etereo, se ne distilla in bagnomaria la maggior parte ed il residuo si versa in una capsula di porcellana, ove si fa evaporare a secco in bagnomaria.

Una piccola parte del residuo si assaggia: un sapore dolce intenso non è però caratteristico della saccarina, perchè anche la dulcina, il levulosio ed un po' di glicerina sono estratti dal vino nelle accennate condizioni. In tutti i modi, il sapore sarà indizio sufficiente per farci approfondire l'indagine e per ricercare, con altra reazione, la saccarina.

Il residuo dolce si tratta con un eccesso di soluzione concentrata di cloruro ferrico, si neutralizza con carbonato di calcio e si filtra. Il filtrato nel quale è passata inalterata la saccarina, si evapora a secchezza, si tratta con lisciva concentrata di soda e non di potassa e si scalda per mezz'ora a 250° C. a bagno d'olio o a bagno d'aria. Si scioglie il residuo nell'acqua, si acidifica la soluzione con acido solforico e si cerca l'acido salicilico, che si è formato, per azione dell'alcali sulla saccarina, nel modo che si dirà più oltre.



La saccarina si può identificare anche nel modo proposto da Riegler. Il residuo lasciato dall'etere, gr. 0,01 o 0,02, si scioglie in 10 emc. di acqua a cui sono state aggiunte due gocce di soda 10 %. La soluzione si mette in un agita-

tore e si unisce goccia a goccia con una soluzione di p-diazonitrilina (1), agitando continuamente fino a che scompare la colorazione giallo verdastra del liquido. Si dibatte allora con 10 cme. di etere per mezzo minuto, si butta lo strato acquoso e si aggiungono all'etere 20 o 30 gocce di soluzione di soda 10 %. Nel punto di contatto dei due liquidi si ha immediatamente un anello verde: se si dibatte mezzo minuto, si separa uno strato acquoso colorato in giallo verdastro, ed uno strato eterico colorato in verde. Più sensibile ancora sarà la reazione quando si butti lo strato acquoso giallo verdastro, si aggiungano all'etere 5 cme. di soluzione concentrata di ammoniacca e si dibatta per mezzo minuto. L'etere si decolora e l'ammoniacca piglia una bella colorazione bleu verdastra. Nel caso di una mescolanza di saccarina e di acido salicilico, la soluzione ammoniacale piglia una colorazione violetta.

Finalmente la saccarina si può identificare sciogliendo il residuo dell'estrazione con etere in 5 cme. di acqua distillata, aggiungendo 1 o 2 gocce di acqua ossigenata diluita, lasciando in riposo mezz'ora e facendo poi evaporare in bagnomaria fino a sechezza. Il residuo si ripiglia con qualche goccia di alcool e si tratta con soluzione molto diluita di cloruro ferrico. In presenza di saccarina, apparisce una colorazione violetta, dovuta alla trasformazione della saccarina in acido salicilico per opera dell'acqua ossigenata.

### Dulcina.

La dulcina è, come la saccarina, una sostanza edulcorante artificiale, che viere in commercio anche col nome di *Sacrol*.

Si ricerca nel vino nel modo seguente:

100 cme. di vino si mescolano con 5 gr. di carbonato di piombo e si fanno evaporare in bagnomaria fino a che si ottiene una poltiglia densa. Questa si tratta più volte con alcool, il quale si fa evaporare in bagnomaria ed il residuo si estrae con etere. Il residuo lasciato dall'etere, dopo evaporazione, si assaggia e se abbia un sapore dolce si unisce con 2 gocce di fenolo, 2 gocce di acido solforico concentrato e si riscalda per breve tempo. Si allunga con pochi cme. di acqua il prodotto della reazione, bruno-rosso, si mette in un tubo da saggio nel quale si versa ammoniacca o soda in modo da non far mescolare i due liquidi ma che si sovrappongono. Nel punto di contatto si formerà una zona bleu in presenza di dulcina.

### Sucramina.

La sucramina o zucchero di Lione, è la saccarinammonio; più dolce della saccarina, facilmente solubile nell'acqua, insolubile nell'etere e nell'etere di petrolio. Per la ricerca di questa sostanza edulcorante nel vino, si scaccia l'alcool per evaporazione, si fa bollire il liquido residuo per un quarto d'ora con un piccolo eccesso di soda, per la qual cosa la sucramina si trasforma in saccarina, perdendo ammoniacca. Si acidifica allora il liquido debolmente con acido cloridrico, si estrae la saccarina con etere e si dimostra nel modo detto di sopra (Blarez e Tourron).

(1) La p-diazonitrilina si prepara sciogliendo in un matraccio di 250 cme., 2,5 gr. di p-nitrilina in 25 cme. di acqua e 5 cme. di acido solforico puro: si diluisce con 25 cme. di acqua e si aggiunge una soluzione di gr. 1,5 di nitrito di sodio in 20 cme. di acqua. Dopo breve tempo si porta a 250 cme. e si filtra.

### Sale.

Il sal comune si aggiunge al vino per comunicargli un po' di sapore od una certa rotondità.

Il cloro si determina nel modo seguente:

50 emc. di vino si trattano cautamente in un becher con soluzione di carbonato di sodio, esente di cloro, fino a reazione alcalina. Si scalda il bicchiere, coperto con vetro da orologio, fino a che sia sviluppata l'anidride carbonica, indi si evapora a secco il liquido in capsula di platino ed il residuo si carbonizza. Si aggiunge acqua, si filtra, si lava ripetutamente capsula e residuo, e nel filtrato si determina il cloro nel modo detto per l'acqua potabile.

Si considererà salato il vino che contenga una quantità di cloro eguale o superiore a gr. 0,03 per 100, ovvero una quantità di cloruro di sodio eguale o superiore a gr. 0,05 per 100.

### Allume.

L'allume si aggiunge al vino per conservarlo o per comunicargli il sapore stittico, simile a quello dei vini toscani, o per mascherare sapori provenienti da alcune malattie del vino e specialmente dalla muffa. La ricerca dell'allume si fa nel modo seguente:

50 emc. di vino si fanno evaporare in bagnomaria fino ad un quarto all'incirca, il residuo si decolora con carbone animale puro, si filtra ed il filtrato, limpido e scolorato, si neutralizza *perfettamente* con soluzione debole di soda o di potassa. 3 emc. del liquido neutro si mescolano con 1 emc. di alcool a 95 % in un tubo da saggio e si tratta con alcune gocce di una soluzione alcoolica recente di campeggio (1) e se si abbia colorazione verde o bleu, vuol dire che il vino contiene allume.

L'allume nel vino può essere trasformato completamente od in parte, dopo breve tempo, perchè l'acido fosforico forma coll'allumina un sale insolubile e precipita lasciando in soluzione l'acido solforico. Perciò l'allume non rimarrà nel vino se non quando abbia precipitato tutto l'acido fosforico (Sestini).

### Alcool.

L'aggiunta di alcool al vino si può scoprire determinando l'alcool e la glicerina. Nei vini naturali, in generale, il rapporto tra la quantità di alcool in peso, fatto eguale a cento, e la glicerina non va mai al disotto di 6 ed al disopra di 14. Si capisce facilmente che nel caso di aggiunta sproporzionata di alcool il rapporto va sotto 6 e nel caso di aggiunta sproporzionata di glicerina, il rapporto va sopra 14.

Inoltre il rapporto tra il peso dell'alcool e l'estratto, dedotto lo zucchero, che nei vini rossi naturali non va mai al disotto di  $4 \frac{1}{2}$ , con la tolleranza di  $1 \frac{1}{15}$ ,

(1) Vedi: allume nelle farine.

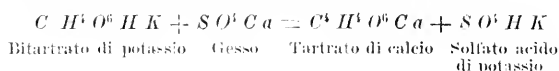
e che nei vini bianchi non va al disotto di 6,5, nel caso dell'alcoolizzazione dovrà variare di molto.

### Gessatura.

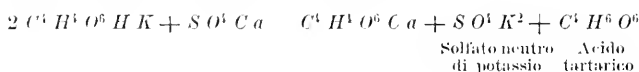
La gessatura dei mosti si pratica nelle regioni meridionali d'Italia, Francia e Spagna ove la vinificazione per effetto della temperatura ambiente troppo elevata, non si compie senza inconvenienti.

La gessatura modifica profondamente la composizione del mosto, poichè per essa diminuisce: la intensità colorante, il bitartrato di potassio, il quale viene sostituito dal solfato neutro od acido di potassio, diminuiscono i fosfati ed aumenta l'acidità.

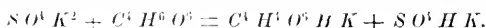
Secondo Bussy e Buignet la reazione tra il gesso ed il bitartrato di potassio avviene secondo la equazione seguente:



Secondo Magnier, la reazione, invece, si compirebbe in due tempi: si formerebbe prima acido tartarico e solfato neutro di potassio,



il quale in presenza dell'alcool cederebbe all'acido tartarico una porzione del potassio e si formerebbe solfato acido e bitartrato di potassio.



Esperienze più recenti fanno credere che nel vino rimanga veramente solfato neutro di potassio e si liberino acido tartarico ed altri acidi minori, combinati al potassio.

La gessatura si determina nel modo seguente:

Si versano in un matraccio Erlenmeyer 10 cme. di vino e, per mezzo di una buretta, 2 cme. di una soluzione titolata di cloruro di bario (1). Si riscalda il miscuglio, fin presso all'ebollizione, si lascia in riposo per qualche tempo e si filtra. Al filtrato, perfettamente limpido, si aggiunge ancora qualche goccia di soluzione di cloruro di bario e se si ottenga un precipitato vuol dire che il vino è gessato oltre il 2‰. Perchè la soluzione è titolata in modo che ogni cme. contiene tanto cloruro di bario capace di precipitare l'acido solforico contenuto in gr. 0,01 di solfato neutro di potassio, che, contenuto in 10 cme. di vino, viene ad essere 1 gr. in un litro.

Ora, il nostro regolamento inibisce la vendita di un vino che sia gessato oltre il 2‰; in questo caso, si dovrà imporre il taglio con un vino non gessato.

(1) La soluzione titolata di cloruro di bario si prepara sciogliendo gr. 14 di cloruro di bario puro e finamente cristallizzato in 1000 cme. di acqua distillata contenente 50 cme. di acido cloridrico concentrato.



**Acido solforico libero.**

L'acido solforico libero si ricerca nel modo seguente:

100 cme. di vino si fanno evaporare in bagnomaria fino a consistenza sciroposa ed il residuo si estrae più volte con alcool assoluto. Questo si fa evaporare in bagnomaria; al residuo si aggiunge un po' d'acqua ed una porzione di questa soluzione si versa in un tubo da saggio contenente 5 o 6 cme. di soluzione diluita di metilviolett. In presenza di acido solforico libero, il colorito violetto passerà al bleu ed anche al verde.

**Acido salicilico.**

50 cme. di vino si mettono in un agitatore cilindrico, si acidificano con 5 cme. di acido solforico diluito e si dibattono con 100 cme. di una miscela a parti eguali, di etere ordinario e di etere di petrolio. Si lascia in riposo, si separa l'etere, che si fa evaporare, ed il residuo, sciolto in poche gocce di alcool, si tratta con cloruro ferrico. Si avrà colorazione violetta in presenza di acido salicilico. Il residuo si può trattare anche come è stato detto per la saccarina nel processo di Riegler e, per aggiunta di soda, si ha colorazione rossa: agitando, lo strato acquoso diviene rosso, lo strato eterico rimane scolorato. Se si aggiunga ammoniaca e si dibatta, lo strato eterico è scolorato, lo strato acquoso si colora in rosso.

Si deve evitare di dibattere il vino con etere solo perchè questo scioglie alcune sostanze provenienti dai raspi, che reagiscono come l'acido salicilico. (Pellet). Adoperando però 50 cme. di vino, la reazione dell'acido salicilico si ha solo nel caso che si tratti di una sofisticazione. (Medicus).

**Abrastol.**

L'abrastol è il solfonaftolato di calcio e si usa per conservare il vino invece della gessatura. Pochi gr. di abrastol per litro sono sufficienti per conservare il vino lungamente anche se tenuto in luogo poco o niente adatto. L'abrastol nel vino reagisce col bitartrato di potassio e dà tartrato di calcio che precipita e  $\beta$ -naftolato di potassio ed acido  $\beta$ -naftolsolfonico che rimangono in soluzione. Si ricerca nel modo seguente:

20 cme. di vino si versano in un agitatore a chiavetta, della capacità approssimativa di 60 cme.; si neutralizzano con ammoniaca in leggero eccesso, si aggiungono 25 cme. di alcool amilico e si agita fortemente. Si lascia in riposo e quando l'alcool amilico si è separato, si raccoglie in altro tubo filtrandolo se occorre. Si scalda, per scacciare l'ammoniaca eccedente, si aggiunge 1 cme. di soluzione di cloruro ferrico al centesimo e si agita. In presenza di abrastol, si manifesta una bella colorazione bleu ardesia, che rimane nell'alcool anche quando si sia separato dal liquido acquoso.

**Fluoruri.**

I fluoruri di sodio e di ammonio si aggiungono ai vini alla dose di 20 a 50 gr. per ettolitro collo scopo di preservarlo da malattie o di curarlo nel caso che queste siasi sviluppate. I fluoruri hanno un'azione tossica e

tatanizzante non indifferente, per cui è necessario frenarne l'uso o l'abuso. La ricerca dei fluoruri si fa nel modo seguente:

100 emc. di vino si rendono leggermente alcalini con carbonato di sodio, si fa bollire, si aggiungono 2 o 3 emc. di cloruro di calcio al 10 °., si fa bollire ancora, si fa raffreddare e si filtra per filtro liscio. Il filtro col precipitato si calcina ed al residuo si aggiunge un terzo circa del suo peso di silice precipitata. Si introduce la polvere in un piccolo tubo da saggio, alto 4 o 5 cm., con 0,5 emc. di una mescolanza a parti eguali di acido solforico di Nordhausen e di acido solforico a 66° Beaumé. Si adatta al tubo, per mezzo di un tappo, un piccolo tubo a bolle, contenente nella bolla centrale una goccia d'acqua. Si scalda il tubo da saggio ed il fluoruro di silicio, che si sviluppa, venendo a contatto dell'acqua, si decompone in silice gelatinosa e comunica ad essa un aspetto torbido, ed in acido idrofluosilicico. Quando il fluoro è in piccola quantità e non si osserva l'intorbidamento, si fa seccare il tubo a bolle in stufa, si lava con alcool a 95° e si secca di nuovo. In questo modo si possono vedere anche piccolissime quantità di silice.

### Metalli tossici.

I metalli tossici che comunemente si possono trovare nel vino sono: *piombo e rame*. Per ricercare questi metalli, si opera nel modo seguente:

100 emc. di vino si fanno evaporare in bagnomaria in capsula di platino o di porcellana fino a consistenza di sciroppo. Il residuo si brucia e l'incinerazione si favorisce aggiungendo acido nitrico di tanto in tanto. Il residuo si riprende con acqua distillata, si filtra ed in una porzione del filtrato si ricerca il piombo come è stato indicato per l'acqua potabile; nell'altra porzione si ricerca il rame. Perciò il filtrato si mette in una capsula di porcellana, si neutralizza con carbonato di sodio; nel caso che sia acido, si unisce con un pezzetto di candela stearica e si riscalda in bagnomaria fino a completa fusione della stearina, agitando continuamente con una bacchetta di vetro. Si toglie la capsula dal bagnomaria, si fa raffreddare lasciando il liquido tranquillo. Dopo un certo tempo, la stearina si solidifica e se nel vino non vi era rame, essa apparirà di un bianco candido, se vi era rame assumerà un colorito verde tanto più intenso quanto maggiore è la quantità di rame presente. Dalla maggiore o minore intensità del colorito si potrà fare un apprezzamento della quantità di rame abbastanza approssimato al vero, quando specialmente si abbiano dei dischetti-campione colorati con quantità diverse di rame.

### Birra.

La birra è una bevanda alcoolica completamente fermentata, che contiene le sostanze solubili del malto e, come condimento, le sostanze amare ed aromatiche del luppolo.

La fabbricazione della birra comprende le seguenti operazioni :

- 1° Preparazione del malto ;
- 2° Preparazione del mosto di birra :
- 3° Fermentazione del mosto.

Le birre del commercio si dividono, a seconda delle materie prime adoperate nella loro fabbricazione, in birre di malto d'orzo, in birre miste, cioè, di malto d'orzo, di frumento e di altri cereali, e birre artificiali, cioè di mais, di riso, di sciroppo d'amido.

A seconda del modo di preparazione, le birre si distinguono pel colore, pel gusto e per la loro serbevolezza. Così si hanno *birre chiare* o *scure* a seconda della temperatura più o meno elevata alla quale è stato torrefatto il malto; si hanno *birre di fermentazione bassa od alta*, a seconda che la fermentazione siasi effettuata a temperatura vicino a zero o superiore; si hanno *birre giovani* o *al dettaglio* se si consumano in inverno dopo 14 o 15 giorni dalla loro fabbricazione; si hanno *birre di conserva* se conservate nelle cantine per alcuni mesi.

### Analisi della birra.

L'analisi della birra comprende la determinazione della *densità*, della *quantità di alcool*, dell'*estratto*, delle *sostanze azotate*, della *glicerina*, delle *ceneri* e dell'*acidità*.

#### Densità.

La densità si determina, nel modo detto per il vino, o col picnometro o colla bilancia di Westphal, allontanando prima l'acido carbonico, dibattendo ripetutamente la birra in un matraccio e sottoponendola poi all'azione del vuoto.

#### Alcool.

L'alcool si determina o per distillazione o coll'ebulliscopio di Malligand colle avvertenze notate, per la stessa determinazione, nel vino.

#### Estratto.

La determinazione dell'estratto si fa per via indiretta, seguendo pure le indicazioni date nel vino, per la stessa determinazione.

#### Sostanze azotate.

Per la determinazione delle sostanze azotate, si impiegano 20 emc. di birra e si trattano come è stato detto, per la stessa determinazione, nel latte. Per avere la sostanza azotata, si moltiplica l'azoto trovato per 5,7.

#### Glicerina.

La glicerina si determina come è stato detto, per la stessa determinazione, nel vino.

**Ceneri.**

Le ceneri si determinano, evaporando in una capsula di porcellana o di platino 50 cmc. di birra fino a sechezza e bruciando il residuo con fiamma diretta. La differenza di peso tra la capsula vuota e la capsula con ceneri, dà la quantità delle ceneri in 50 cmc. di birra. Moltiplicando per 2 si ha la quantità di ceneri in 100 di birra.

**Acidità.**

L'acidità della birra è data dall'acido carbonico, dall'acido lattico, da piccola quantità di acido acetico, da tracce di acido succinico e di fosfati acidi.

Solo le birre di fermentazione alta contengono quantità piuttosto grandi di acido acetico.

L'acidità totale si determina versando in una capsula di porcellana 100 cmc. di birra e riscaldando tra 40° e 50° C. per eliminare l'acido carbonico. Poi si neutralizza con potassa  $N_{10}$  o meglio con barite titolata, servendo da indicatore la carta di tornasole, come è stato consigliato nel vino.

L'acidità volatile si determina, acidificando 200 cmc. di birra con acido fosforico, e distillando in corrente di vapor d'acqua, come è stato detto nel vino.

L'acidità totale si esprime in acido lattico, moltiplicando per 0,009 il numero di cmc. di potassa  $N_{10}$ ; l'acidità volatile si esprime in acido acetico, moltiplicando il numero di cmc. di potassa  $N_{10}$  per 0,006.

L'acidità totale nelle birre a fermentazione bassa deve essere compresa tra un minimo di 0,108 ed un massimo di 0,270 <sup>u</sup>.

**COMPOSIZIONE DELLA BIRRA.**

TAB. 73.

Qualità	N. delle analisi	Densità	Alcool in peso v/o		Estratto v/o	Sost. azotate v/o	Gomma e destrina v/o	Acidità in acido lattico v/o	Glicerina v/o	Ceneri v/o	Acido fosforico v/o
Birra d'inverno	205	1.0114	3.36	5.34	0.74	3.41	0.156	0.120	0.204	0.035	
Birra d'estate	258	1.0162	3.93	5.79	0.71	3.73	0.151	0.165	0.228	0.077	
Birra d'esportazione . . .	109	1.0176	4.40	6.38	0.74	3.47	0.161	0.154	0.247	0.074	
Birra doppia . . .	84	1.0213	4.69	7.21	0.73	3.97	0.165	0.176	0.263	0.089	
Birra chiara . . .	26	1.0137	2.73	5.34	0.38	2.42	0.392	0.092	0.149	0.034	
Birra alta . . .	8	1.0102	2.79	4.13	0.41	1.75	0.433	0.225	0.174	0.019	
Birra di riso . . .	3	1.0213	3.86	6.91	0.46	4.20	0.23	—	0.22	0.077	
Birra di mi- glio . . . . .	1	—	2.37	4.02	0.28	0.23	0.50	—	0.18	—	
Porter . . . . .	40	1.0194	4.70	6.39	0.63	3.08	0.281	—	0.363	0.093	
Ale . . . . .	38	1.0144	4.75	5.65	0.61	1.81	0.278	—	0.310	0.086	
Lambik . . . . .	6	1.0049	5.02	3.66	0.43	1.68	0.887	—	—	—	

## Sofisticazioni.

Le sofisticazioni della birra consistono soprattutto nella sostituzione di altri cereali all'orzo e di altre sostanze amaricanti al luppolo. Inoltre, la birra, siccome è poco alcoolica ed è ricca di sostanze nutrienti, è facile a guastarsi: per evitare ciò si aggiungono antisettici quali acido solforoso, acido salicilico.

Del modo di ricercare le varie sostanze amaricanti vegetali, che possono essere sostituite al luppolo, non possiamo qui occuparci: solo accenneremo all'acido picrico, che contemporaneamente è un amaricante ed un colorante.

La ricerca dell'acido picrico nella birra si fa come è stato già prescritto per la ricerca delle materie coloranti gialle nelle paste da minestra; in quell'articolo si trovano pure le reazioni caratteristiche di detto acido.

Per la ricerca dell'acido salicilico può essere applicato tanto il processo dato, per la stessa ricerca nel vino, quanto il processo Jorgensen dato per la ricerca dell'acido salicilico nel latte.

La ricerca dell'acido solforoso si fa nel modo seguente:

Si mettono in una storta tubolata, di cui il collo è molto affilato, 100 cme. di birra, acidificata con qualche goccia di acido solforico, e si distilla fino ad un terzo, raccogliendo il distillato in una soluzione di nitrato d'argento. L'acido solforoso, che distilla, produce nella soluzione d'argento un precipitato bianco solubile nell'acido nitrico. Quando la birra contenga grandi quantità di solfito di calcio, si può distillare, senz'altro, e mescolare poi una porzione del distillato con soluzione d'argento. Si avrà un precipitato bianco, solubile nell'acido nitrico. Un'altra porzione del distillato si ossida con soluzione di jodio in eccesso, si acidifica con acido cloridrico e si precipita con cloruro di bario. L'acido solforoso, trasformato in solfato, sarà precipitato in forma di solfato di barite.

### Arsenico.

Per la ricerca dell'arsenico nella birra, vedi utensili domestici.

### Aceto.

L'aceto, come abbiamo visto, è il prodotto di una fermentazione anormale del vino, nella quale l'alcool si ossida e si trasforma completamente in acido acetico.

L'aceto quindi differisce essenzialmente dal vino e possiede proprietà particolari che lo fanno entrare nel novero dei condimenti più in uso.

FABBRICAZIONE DELL'ACETO. — L'aceto, per il consumo ordinario, proviene in parte dal vino che acidifica spontaneamente, in parte dal vino acidificato artificialmente.

La fabbricazione artificiale dell'aceto si fa in questo modo: si versa aceto forte in botti posate su assiti di legno, e della capacità di 200 a 400 litri, fino ad un terzo del loro volume. Si

lasciano stare così alcuni giorni, per permettere al legno di imbevversarsi completamente, poi di 8 in 8 giorni vi si versano 10 litri di vino. L'aceto, che si forma alla superficie, per il peso specifico maggiore del vino va a fondo e così si stabiliscono delle correnti dall'alto al basso e viceversa, le quali permettono una nuova e continua fermentazione acetica alla superficie. Dopo 4 settimane circa si può già estrarre dalle botti dell'aceto forte il quale è sostituito con altrettanto vino. In questo modo la fabbricazione dell'aceto è continua e le botti possono servire 6 od 8 anni senza essere mai vuotate.

**COMPOSIZIONE DELL'ACETO.** — L'aceto ha la stessa composizione del vino: ne differisce soltanto perchè la maggior parte dell'alcool è trasformato in acido acetico e leggermente modificata è la quantità delle altre sostanze che si trovano nel vino.

Secondo Girard, un aceto naturale di vino deve avere una composizione che oscilli entro i limiti seguenti:

Densità . . . . .	tra	1,015 ed 1,020
Estratto . . . . .	»	1,38 e 3,19 ‰
Bitartrato potassico . . . . .	»	0,605 e 0,357 ‰
Ceneri. . . . .	»	0,16 e 0,668 ‰
Acidità . . . . .	»	4,5 e 7,5 ‰

### Analisi dell'aceto.

Nell'analisi dell'aceto si seguono le stesse norme date per il vino, perchè le determinazioni da farsi sono le stesse. Cioè, densità, estratto, ceneri, zuccheri, bitartrato di potassio, acidità volatile ed acidità fissa. Siccome però la determinazione dell'acidità volatile e dell'acidità fissa, eseguita nel modo indicato per il vino, richiede una quantità di tempo considerevole, si è convenuto, in pratica, di determinare nell'aceto l'acidità totale e considerarla come tutta data dall'acido acetico.

### Acidità.

L'acidità si determina nel modo seguente:

10 cmc. di aceto, si mettono in un bicchiere, si allungano coll'egual volume di acqua distillata e si neutralizza l'acidità della mescolanza con potassa normale servendosi, come indicatore, della fenoltaleina o delle carte di tornasole. Dal numero di cmc. di potassa impiegati per la neutralizzazione, si calcola l'acido acetico ‰ moltiplicandoli per 0,06 ed il risultato per 10.

Un buon aceto non deve contenere meno del 4 ‰ di acido acetico.

### Sofisticazioni dell'aceto.

L'aceto di vino può essere sofisticato aggiungendogli acqua e contemporaneamente acido acetico od acidi minerali, per compensare la perdita di acidità per l'annacquamento, oppure sostituendolo completamente cogli aceti di spirito.

### Annacquamento.

L'annacquamento dell'aceto si può scoprire nel modo che si è detto per l'annacquamento del vino. Inoltre è d'aiuto prezioso il rapporto dell'acido acetico all'estratto, che, secondo Silva, non deve essere superiore a 3 e, secondo i francesi, a 4,9 colla tolleranza di  $\frac{1}{10}$ ; ed il rapporto della glicerina all'alcool virtuale (1) che deve oscillare tra 7 ed 11 parti di glicerina per 100 parti di alcool in peso. L'aggiunta degli acidi non modifica punto i rapporti suddetti nel senso da mascherare l'annacquamento, anzi li rende più caratteristici e più significativi.

### Acidi minerali.

Gli acidi minerali si ricercano nel modo seguente:

In due tubi da saggio si versano alcuni cm. cubici di una soluzione diluita di metilviolettio; ad uno di essi poi si aggiunge mezzo emc. circa di aceto sospetto e si comparano le colorazioni. Se cioè si abbia il passaggio dal violetto al bleu ed anche al verde si può concludere sicuramente sulla presenza degli acidi minerali.

Nel caso che si voglia conoscere quale acido minerale sia stato aggiunto all'aceto, si opera, per l'acido solforico, nel modo detto, per la stessa ricerca, nel vino; per l'acido cloridrico e per l'acido nitrico, si distilla l'aceto fino a raccogliere una quantità di distillato eguale alla metà circa del volume del liquido messo a distillare e su di esso si fa la nota reazione con nitrato d'argento, per l'acido cloridrico, con difenilammina per l'acido nitrico.

### Aceto di spirito, essenza di aceto.

Questa sofisticazione riesce anche facile a scoprirsi, perchè l'aceto preparato coll'essenza è poverissimo di sostanze estrattive, non contiene cremore di tartaro e glicerina, oppure in quantità piccolissima, e dà la nota reazione dei nitrati. Perchè colla essenza o collo spirito d'aceto le diluizioni si fanno con acqua comune nella proporzione approssimativa di uno a quindici.

### Metalli nocivi.

È molto facile nell'aceto trovare il rame, sia che vi pervenga accidentalmente, sia che vi si aggiunga studiosamente per mantenere alle verdure, conservate con esso, il colorito verde che altrimenti perderebbero.

La ricerca del rame nell'aceto si fa nel modo identico che è stato detto per il vino.

### Malattie dell'aceto.

L'aceto è soggetto ad ammalare quando abbia un'acidità più bassa del 4  $\frac{0}{10}$  e quando contemporaneamente contenga abbondanti quantità di sostanze estrattive e di cremore di tartaro. Nella stagione estiva, si sviluppano in

(1) Per alcool virtuale s'intende la quantità calcolata dall'acido acetico e che corrisponde effettivamente all'alcool preesistente. Poichè l'acido acetico proviene, per ossidazione, dall'alcool.

esso delle anguillule, *anguillula aceti*, le quali sembra che trasformino l'acido acetico in acido carbonico ed acqua ed utilizzino ancora le altre sostanze che si trovano in soluzione.

## Alcool.

Per lungo tempo, l'alcool, è stato ottenuto, per distillazione, dalle bevande fermentate, e specialmente dal vino. Ma quando le malattie dell'uva e della vite fecero abbassare la produzione del vino e quando i bisogni delle industrie crebbero col crescere della loro produzione, l'alcool ottenuto coi vecchi sistemi non bastò più e si dovette ricorrere alle barbabietole, alle melasse, ai cereali, ed ai tuberi. E fu soprattutto rivolgendosi molte cure alla trasformazione delle sostanze amidacee che l'industria poté fornire alcool a basso prezzo ed in quantità tale da oltrepassare tutti i bisogni. Durante questo periodo, nacque l'industria dei liquori e delle acquaviti artificiali, imitanti quelle naturali e da quest'epoca in poi l'alcoolismo divenne sempre più allarmante.

### PREPARAZIONE DELL'ALCOOL COLLE SOSTANZE AMIDACEE.

-- La preparazione dell'alcool colle sostanze amidacee comprende varie operazioni:

- 1° Saccarificazione;
- 2° Fermentazione;
- 3° Distillazione;
- 4° Rettificazione.

La sostanza amidacea macinata o spappolata si mescola con 8 o 10 volte il suo peso d'acqua e si cuoce in apparecchi aperti alla temperatura di 100°, oppure in apparecchi chiusi alla temperatura di 130-140°, mediante il vapore. Dopo un'ora di cottura, la massa si fa passare in una tina, si fa raffreddare a 65°-70° C. e si mescola colla diastasi, proveniente dalla germinazione dell'orzo, oppure dalla germinazione del seme stesso che serve come materia saccarificabile e si lascia così per un'ora. Poi si diluisce la massa pastosa a 6 o 7 gradi Beaumé con acqua o col liquido che scola dalle colonne distillatrici, si raffredda a 25 o 30° e si unisce con lievito pressato nella proporzione di kg. 0,500, per 100 di cereale, messo in opera. La fermentazione si manifesta poche ore appresso l'aggiunta del lievito e dura fino alla completa trasformazione dello zucchero, ciò che impiega un tempo non superiore a trenta ore.



**DISTILLAZIONE.** — Dal mosto fermentato si separa l'alcool mediante la distillazione. Facendo bollire il mosto, si formano dei vapori che contengono tutte le sostanze volatili presenti in quantità proporzionale ai punti di ebollizione di ognuna e nel caso presente si troverà nei vapori più alcool che nel mosto stesso. Dalla condensazione di cotesti vapori, si otterrà un liquido piuttosto ricco di alcool, che mano mano va indebolendosi fino a che nelle ultime porzioni condensate non si trova che acqua. In pratica si sa che per ottenere tutto l'alcool, contenuto in 100 kg. di mosto nella proporzione del 3 %, si devono evaporare 20 kg. di liquido, nella proporzione del 4 %, 25 kg.; nella proporzione del 5 %, 29 kg.; nella proporzione del 6 %, 33 kg. Per ottenere ora vapori ricchi di alcool e per ottenere distillati che ne contengano la massima quantità, si fa uso di distillatori a colonna, nelle grandi industrie o di deflemmatori nelle piccole, e questi sono degli apparecchi, ammessi al distillatore, che possono essere raffreddati. I vapori alcoolici, passando in questo ambiente con una temperatura di qualche grado più bassa della loro, si decompongono: una parte molto acquosa si condensa e torna nell'alambicco; un'altra, più ricca di alcool, resta allo stato di vapore e passa nel condensatore. In questo modo, si possono ottenere degli spiriti di una forza considerevole con una sola distillazione.

**RETTIFICAZIONE.** — L'alcool, così ottenuto, ha un sapore ed un odore cattivo, ed è perciò nelle distillerie chiamato flemma. La flemma per essere purificata e rettificata, si ridistilla in apparecchi a colonna più piccoli ed i vapori si refrigerano almeno due volte, prima di entrare nel serpentino condensatore, oppure si ridistillano in apparecchi con due deflammatori. In tutti i modi, la rettificazione non può dare in ogni momento alcoli con odore e sapore buono, poichè nelle flemme si trovano sostanze con punti di ebollizione molto diversi, quindi è necessario di frazionare il prodotto che esce dai rettificatori, almeno in tre parti. Nella prima, alla quale si dà il nome di *testa*, si raccoglie il distillato che contiene abbondanti quantità di prodotti più volatili dell'alcool e specialmente le aldeidi. Nella seconda alla quale si dà il nome di *corpo* o *cuore*, si raccoglie il distillato che contiene piccolissima quantità di impurezze e perciò è un alcool che ha sapore ed odore buono e può essere usato nella fabbricazione dei liquori. Nella terza, alla quale si dà il nome di *coda*, si raccoglie il distillato che contiene oltre all'alcool etilico, tutte le sostanze che hanno un punto di ebollizione superiore ad esso e

questa porzione ha odore cattivissimo e serve per la fabbricazione delle vernici.

Mohler ha determinato il modo di distribuzione delle impurità, nei vari frazionamenti, calcolandole in gr. per ettolitro:

	Rese della frazione	Acidi	Eteri	Aldeidi	Furfurolo	Alcooli superiori	Sostanze azotate
Cattivo gusto di testa . . . . .	1,63 %	0,12	4,36	7,54	0	0	0,01
Gusto medio di testa . . . . .	8,55 »	0,27	6,77	12,31	0	0	0,03
Buon gusto di testa . . . . .	24,20 »	0,73	3,19	0,58	0	0	0,03
Cuore . . . . .	28,32 »	0,51	1,47	traccie	0	0	0,02
Buon gusto di coda . . . . .	27,84 »	0,50	2,44	0	traccie	0,72	0,04
Gusto medio di coda . . . . .	5,52 »	0,13	0,75	traccie	0,03	138,0	0,01
Cattivo gusto di coda . . . . .	1,91 »	0,11	1,34	0,15	0,13	172,0	0,03
		2,37	20,32	20,58	0,16	310,72	0,18

Le flemme quindi contengono le sostanze seguenti:

Alcool etilico;	Acido propionico;	Aldeide isobutirrica;
» propilico;	Acetato di etile;	Paraldeide;
» isobutirrico;	Acetal;	Aldeide enantilica;
» amilico;	Propionato di etile;	» caproica;
» caprilico;	Isobutirrato di etile;	Aldeide pironneica o
Glicol isobutilenico;	Enantilato di etile;	furfurolo;
Glicerina;	Acetato di amile;	Basi;
Acido acetico;	Isobutirrato di amile;	Olii essenziali.
» butirrico;	Aldeide etilica;	

Ora, industriali poco onesti, per aumentare i loro guadagni, possono non osservare scrupolosamente le regole imposte per la separazione delle flemme e possono mandare nell'alcool di corpo teste e code. Ciò porta per conseguenza che gli alcooli che devono essere destinati al consumo alimentare, contengono troppe impurezze, che li rendono poco propri e capaci di produrre sollecitamente l'alcoolismo. Quindi, l'analisi degli alcooli consiste soprattutto nella determinazione totale di coteste impurezze e nella determinazione singola di alcune di esse.

#### Determinazione delle impurità col metodo di Röse.

Per determinare le impurità col metodo di Röse, si distilla l'alcool da esaminare in presenza di qualche goccia di potassa, affine di decomporre gli eteri, di eliminare gli acidi e le sostanze estrattive che possono esservi arrivate e si raccoglie tanto distillato da eguagliare i  $\frac{1}{3}$ ; del liquido impiegato (Stutzer e Reitnair). Del distillato si determina la densità col picnometro, oppure colla bilancia di Westphal, si legge nelle tabelle la gradazione alcoolica e si diluisce a 30 volumi per cento, calcolando l'acqua da aggiungere colla formola seguente:

$$y = 100 \left( D' \frac{r}{v} - D \right)$$

ove  $y$  indica la quantità di acqua che si deve aggiungere a 100 emc. di alcool;  $D$  la densità dell'alcool che si vuole diluire,  $v$  i gradi alcoolometrici corrispondenti alla densità  $D$ ,  $D'$  la densità che deve avere l'alcool a 30°<sub>0</sub>,  $v'$  i gradi alcoolometrici corrispondenti alla densità  $D'$ .

Per mezzo di questa formola, però, non si arriva mai ad avere un alcool colla gradazione precisa di 30°<sub>0</sub>; è necessario perciò di determinare di nuovo la densità, dopo la diluizione, e di aggiungere acqua distillata fino ad ottenere, colla massima precisione, la densità e la gradazione alcoolica voluta.

Inoltre è necessario di preparare una soluzione di acido solforico della densità 1,286 ed un cloroformio esente affatto di alcool, e ciò si ottiene depurando il cloroformio del commercio nel modo indicato da Marquardt. In una bottiglia, con pareti resistenti, si mettono 440 gr. di cloroformio, 7 gr. di bicromato potassico, 3 gr. di acido solforico concentrato ed un po' di acqua. Si chiude la bottiglia con turacciolo smerigliato e si riscalda in bagnomaria alla temperatura di 85° C. per 6 ore, agitando continuamente. Poi si distilla il cloroformio, il distillato si unisce con 2 gr. di carbonato di bario e si riscalda in apparecchio a ricadere per mezz'ora. Si distilla nuovamente, si secca il distillato con cloruro di calcio e si ridistilla: in questo momento il cloroformio è pronto per la determinazione.

La determinazione si eseguisce nel modo seguente:

Si lava l'apparecchio agitatore (fig. 263) (1) prima con acido solforico concentrato, poi con acido nitrico (2) e finalmente con abbondanti quantità di acqua. Si secca soffiandovi aria nell'interno, per mezzo di una soffieria e per mezzo di un tubo di vetro che arriva fino in fondo, poi si dispone su di un sostegno e, con un imbuto a lungo collo, vi si versano poco più di 20 emc. di cloroformio. Si immerge in un bagno di acqua, tenuto costantemente a 15° C., e si rettifica il volume del cloroformio, quando si è sicuri che esso abbia preso la temperatura del bagno, immergendovi un tubo di vetro sottile ed estraendo con esso il cloroformio eccedente. In un altro bagno ad acqua, pure mantenuto costantemente a 15° C., si tengono immersi l'alcool, diluito a 30 vol. e la bottiglia contenente la soluzione di



fig. 263.

(1) Per la determinazione delle impurità nell'alcool serve benissimo l'apparecchio graduato in ventesimi di cent. cubo.

(2) Questo lavaggio cogli acidi è necessario specialmente dopo di avere eseguite varie determinazioni.

acido solforico. Quando si è sicuri che tutto abbia preso la temperatura di 15° C., si versano nell'agitatore, sempre immerso nel bagno, 100 cmc. di alcool, e 1 cmc. di acido solforico, si estrae l'agitatore, si capovolge in modo da far raccogliere i liquidi nella palla e si imprime ad esso almeno 120 scosse circa. Si raddrizza e si immerge nuovamente nel bagno, aspettando che tutto il cloroformio sia disceso in basso, favorendo ciò con alcune scosse in senso rotativo.

Dopo un'ora si legge il volume occupato dal cloroformio, si sottrae la base e dalla differenza si calcola la quantità di impurezze, ricorrendo alla tabella 74.

TAB. 74.

Aumento di volume del cloroformio	Alcool amilico corrispondente in cmc.		Aumento di volume del cloroformio	Alcool amilico corrispondente in cmc.		Aumento di volume del cloroformio	Alcool amilico corrispondente in cmc.	
	secondo Sell	secondo Scala		secondo Sell	secondo Scala		secondo Sell	secondo Scala
0.01	0.0066	0.0063	0.23	0.1525	0.1453	0.45	0.2984	0.2352
0.02	0.0133	0.0127	0.24	0.1591	0.1521	0.46	0.3050	0.2915
0.03	0.0199	0.0190	0.25	0.1658	0.1584	0.47	0.3117	0.2979
0.04	0.0265	0.0254	0.26	0.1724	0.1648	0.48	0.3183	0.3042
0.05	0.0332	0.0317	0.27	0.1790	0.1711	0.49	0.3249	0.3105
0.06	0.0398	0.0380	0.28	0.1857	0.1775	0.50	0.3316	0.3169
0.07	0.0464	0.0444	0.29	0.1923	0.1838	0.51	0.3382	0.3232
0.08	0.0531	0.0507	0.30	0.1989	0.1904	0.52	0.3448	0.3295
0.09	0.0597	0.0571	0.31	0.2055	0.1965	0.53	0.3514	0.3359
0.10	0.0663	0.0634	0.32	0.2122	0.2028	0.54	0.3581	0.3422
0.11	0.0729	0.0697	0.33	0.2188	0.2091	0.55	0.3647	0.3485
0.12	0.0796	0.0761	0.34	0.2255	0.2155	0.56	0.3713	0.3549
0.13	0.0862	0.0824	0.35	0.2321	0.2218	0.57	0.3780	0.3612
0.14	0.0928	0.0888	0.36	0.2387	0.2281	0.58	0.3846	0.3675
0.15	0.0995	0.0951	0.37	0.2453	0.2345	0.59	0.3912	0.3738
0.16	0.1061	0.1014	0.38	0.2520	0.2408	0.60	0.3979	0.3802
0.17	0.1127	0.1078	0.39	0.2586	0.2472	0.61	0.4045	0.3865
0.18	0.1194	0.1141	0.40	0.2652	0.2535	0.62	0.4111	0.3929
0.19	0.1260	0.1204	0.41	0.2719	0.2598	0.63	0.4178	0.3992
0.20	0.1326	0.1268	0.42	0.2785	0.2662	0.64	0.4244	0.4055
0.21	0.1393	0.1331	0.43	0.2851	0.2725	0.65	0.4310	0.4119
0.22	0.1459	0.1395	0.44	0.2918	0.2783			

Con una proporzione le impurezze si riferiscono all'alcool originario conoscendo l'acqua aggiunta per la diluizione a 30 °. (1).

BASE. — La base rappresenta l'aumento di volume del cloroformio, ottenuto dibattendone 20 emc. con 100 emc. di alcool *purissimo*, diluito a 30 volumi %, ed operando per il resto nel modo detto di sopra. Poichè il cloroformio, aumenta anche quando si dibatta con alcool puro, non contenente, cioè impurità; ma cotesto aumento, mantenendo sempre la temperatura di 15° e la quantità di alcool e di cloroformio dette, è sempre costante. Quindi, allorchè siasi determinata la base per il cloroformio e per l'apparecchio che si ha, si può ritenere che essa rimanga costante fino ad esaurimento. Quando poi si debba usare un cloroformio nuovo, oppure un cloroformio rigenerato, od un apparecchio nuovo, è necessario determinare nuovamente la base.

Può avvenire che, per circostanze di luogo, riesca difficile di operare a 15° C.; si sceglie allora una temperatura superiore od inferiore ed a quella si fanno tutte le operazioni, compresa la determinazione della base. I risultati sono identici a quelli ottenuti operando a 15° C. (Scala).

La quantità d'impurezze si calcola in alcool amilico, e questo è stato scelto come prototipo unicamente perchè, tra gli alcoli, è il più tossico.

I liquori aromatizzati con essenze si dibattono con etere di petrolio, prima di sottoporli alla distillazione, per eliminare le essenze che agiscono sul cloroformio nel senso stesso delle impurità nocive.

#### Determinazione delle impurità col metodo Girard-Rocques.

Questo metodo è fondato sull'azione esercitata dall'acido solforico concentrato su liquidi alcoolici privi di aldeidi.

Le aldeidi si eliminano nel modo seguente:

A 50 emc. di alcool ridistillato e diluito a 50 vol. °. si aggiunge 1 gr. di cloridrato di metafenilendiamina, si fa bollire per un'ora con refrigerante a ricadere, si lascia raffreddare e si distilla lentamente a bagno di cloruro di calcio evitando di soprarisaldare. Il distillato si porta a 50 emc. ed a titolo di 50 vol. °. e si saggia con acido solforico. Cioè, in un palloncino pulitissimo della capacità di 125 emc. circa, si versano 10 emc. del distillato ed in un altro palloncino, della stessa capacità, 10 emc. di una soluzione tipica, formata con gr. 0.5 di alcool isobutirrico in un litro di alcool a 50 vol. °. A ciascun saggio si aggiungono 10 emc. di acido solforico puro a 66°, avvertendo di farlo scorrere con la pipetta lungo le pareti del pallone, per evitare bruschi riscaldamenti. Poi i due palloni si agitano contemporaneamente e rapidamente, per avere omogeneità di mescolanza ed eguaglianza di temperatura, si portano sopra una fiamma e si riscaldano

(1) Il calcolo si fa in questo modo: supponiamo che per diluire 100 emc. dell'alcool in esame a 30 %, siano stati impiegati emc. 147 di acqua distillata e supponiamo che 100 emc. dell'alcool diluito contengano una quantità di impurezze uguale a emc. 0,1141. Questa quantità di impurezze non è quella contenuta realmente nell'alcool venduto e comperato, ma minore; perchè si trova disciolta non più in 100, ma in 247 emc. di liquido, salvo l'errore per contrazione di volume. Quindi per riferirle all'alcool originario si risolverà la seguente proporzione:

$$100 : 0,1141 :: 247 : x.$$

fino a che si inizia l'ebollizione. Si lasciano raffreddare al riparo da correnti d'aria e dal pulviscolo atmosferico e si confrontano poi le colorazioni e si apprezzano al colorimetro Dubosq. Per la determinazione della quantità di alcool isobutirrico si fa uso della seguente equazione :

$$x = \frac{500 \times H}{H^1}$$

ove  $H$  indica l'altezza del liquido della soluzione tipica,  $H^1$  l'altezza della acquavite a 50 vol.  $\%$ ,  $x$  la quantità di alcoli superiori contenuti in un litro di acquavite a 50 vol.  $\%$ .

Siccome però la intensità della colorazione non è proporzionale alla quantità degli alcoli superiori, bisogna correggere i risultati colla seguente tabella :

TAR. 75.

Quantità apparente	Quantità reale	Quantità apparente	Quantità reale
1.125	1.00	0.379	0.40
1.009	0.90	0.255	0.30
0.886	0.80	0.150	0.20
0.760	0.70	0.060	0.10
0.640	0.60	0.049	0.05
0.500	0.50		

### Ricerca e determinazione delle aldeidi.

Per la ricerca delle aldeidi si adopera la reazione di Gayon. Si diluisce l'alcool a 50 vol.  $\%$ , se ne mettono 10 cmc. in un tubo da saggio e si trattano con 4 cmc. di una soluzione alcoolica di fucsina decolorata (1). Se nell'alcool vi siano molte aldeidi, la fucsina riacquisterà il suo colorito immediatamente, se ve ne siano poche il colorito riapparirà in tempo più o meno lungo. Qualora, servendosi di cotesta reazione, si voglia fare una determinazione quantitativa, si comparerà la tinta presa dall'alcool in esame, con quella presa da un alcool puro della stessa gradazione e contenente cmc. 0,15 di aldeide acetica in un litro.

Quando le tinte sono perfettamente eguali, ciò che si ottiene diluendo o l'uno o l'altro dei liquidi in esame, qualora alla prima prova esse riescano disuguali, si conosce immediatamente la quantità dell'aldeide cercata, conoscendo la quantità di aldeide contenuta nell'alcool di testo. Con una proporzione se ne calcola la quantità nell'alcool originario, conoscendo la quantità d'acqua aggiunta per diluirlo a 50  $\%$ .

(1) In un matraccio di 250 cmc. di capacità, si mettono 30 cmc. di una soluzione di fucsina 1 gr. in un litro di alcool 96  $\%$ , 15 cmc. di bisolito di sodio 36° Bé., 30 cmc. di acqua e, dopo una o due ore, 15 cmc. di acido solforico 1:3 e tanto alcool da completare il volume di 250 cmc. (Roques).

Per la ricerca qualitativa dell'aldeide etilica si può adoperare la reazione di Simou-Rimini. All'alcool che si vuole esaminare si aggiunge un po' di soluzione acquosa di dimetilamina, poi piccolissima quantità di nitroprussiato sodico e di soda caustica. In presenza di aldeide etilica si avrà una splendida colorazione azzurra.

Questa reazione è caratteristica per l'aldeide etilica.

### Ricerca e determinazione del furfurolo.

Il furfurolo si ricerca nell'alcool distillato e ridotto a 50 vol. %, aggiungendo a 10 emc. 10 gocce di anilina recentemente distillata e 3 gocce di acido cloridrico. Se nell'alcool vi sia molto furfurolo apparirà immediatamente una bella colorazione rosso-cremisi, se poco, la colorazione apparirà dopo un tempo più o meno lungo.

Qualora si voglia determinarlo la quantità, si prepara una soluzione di furfurolo sciogliendone gr. 0,005 in 1000 emc. di alcool a 50 % e si opera per confronto, nel modo che è stato detto per le aldeidi.

La ricerca delle aldeidi e del furfurolo negli alcoli commerciali ha questo di interessante che coll'una si può conoscere se nell'alcool ci siano troppi prodotti di testa e coll'altra troppi prodotti di coda. La determinazione delle impurità col metodo di Röse farà conoscere se veramente alla quantità di furfurolo corrispondano anche abbondanti quantità di alcoli superiori, poichè qualche volta il furfurolo non è il rappresentante fedele di questi ultimi.

TAB. 76.

Peso specifico	Correzione per 1° C.	Peso specifico	Correzione per 1° C.	Peso specifico	Correzione per 1° C.
0.794 - 0.864	0.00083	0.955 - 0.957	0.00058	0.974 - 0.975	0.00032
0.864 - 0.889	81	0.957 - 0.959	56	0.975 - 0.976	31
0.889 - 0.902	79	0.959 - 0.961	54	0.976 - 0.977	29
0.902 - 0.912	77	0.961 - 0.962	52	0.977 - 0.978	27
0.912 - 0.921	76	0.962 - 0.963	50	0.978 - 0.980	25
0.921 - 0.928	74	0.963 - 0.965	49	0.980 - 0.981	23
0.928 - 0.935	72	0.965 - 0.966	47	0.981 - 0.983	22
0.935 - 0.940	70	0.966 - 0.967	45	0.983 - 0.985	20
0.940 - 0.943	68	0.967 - 0.958	43	0.985 - 0.987	18
0.943 - 0.946	67	0.968 - 0.969	44	0.987 - 0.990	16
0.946 - 0.949	65	0.969 - 0.970	40	0.990 - 0.995	14
0.949 - 0.951	63	0.970 - 0.971	38	0.995 - 1.000	13
0.951 - 0.953	61	0.971 - 0.973	36		
0.953 - 0.955	59	0.973 - 0.974	34		

Nella tabella precedente 76 si trovano i dati necessari per apportare una correzione alla densità dell'alcool, nel caso che essa non possa esser determinata alla temperatura precisa di 15° C.

Se la temperatura d'osservazione stia sotto 15° la differenza tra le due temperature si moltiplica per la correzione corrispondente e si sottrae dalla densità trovata; se stia sopra 15° si fa la stessa operazione e si aggiunge alla densità trovata.

Nella tabella si trovano le correzioni da adottarsi per le varie densità e per un grado centigrado.

### Acquavite e liquori.

Le acquavite ed i liquori si preparano, nella maggior parte dei casi, diluendo l'alcool del commercio con acqua ed aromatizzando la mescolanza con certi eteri artificiali che imitano l'odore ed il sapore delle acquavite naturali.

Qualche volta si aggiunge loro qualche acido organico, zucchero e materie coloranti, per dare un po' di morbidezza al gusto, forse poco confacente, un po' di sapidità ed una migliore apparenza.

Per l'analisi dei liquori si fanno le seguenti determinazioni e ricerche:

*Densità a 15° C., grado alcoolico, estratto, ceneri, zuccheri, saccarina, dulcina, materie coloranti, acidità totale, volatile e fissa, aldeidi, furfurolo, alcooli superiori.*

La densità ed il grado alcoolico si determinano nel modo che è stato detto per il vino. L'estratto si determina facendo evaporare in bagnomaria nei liquori zuccherati, 25 emc. di liquido, nei liquori non zuccherati o poco, 100 emc. e pesando, dopo che sia stato riscaldato in stufa per tre ore alla temperatura di 100°.

Le ceneri si determinano bruciando l'estratto nel modo conosciuto; gli zuccheri, la saccarina, la dulcina, le materie coloranti, l'acidità si determinano o ricercano come è stato detto per il vino o per le paste da minestra. Le aldeidi ed il furfurolo si ricercano nell'alcool, distillato da un determinato volume di liquore o di acquavite, nel modo detto per l'alcool. Le impurità di coda o gli alcooli superiori si determinano estraendo prima l'acquavite ed il liquore con etere di petrolio, poi distillando in presenza di potassa e praticando il saggio Röse nel modo detto dianzi. I risultati di questa determinazione però non sono tanto netti e sicuri quanto quelli ottenuti dall'alcool, poichè gli aromi, che generalmente servono per condire le acquavite ed i liquori artificiali, ed anche gli aromi che si trovano nelle acquavite naturali e che non possono essere asportati dall'etere di petrolio, si sciolgono nel clorofornio e ne fanno aumentare il volume. Quindi la quantità di impurezze che si ottengono con tale determinazione possono essere molto superiori alla realtà senza essere, almeno per quanto fino ad ora si conosce, incriminabili nello stesso modo delle impurità che si riscontrano negli alcooli del commercio. È certo che,



molti rum, cognac, arrack, ecc. naturali, danno alla prova Röse una quantità d'impurezze superiore al limite massimo 2 ‰, stabilito dal nostro regolamento.

Per ciò che riguarda il giudizio sulla genuinità o meno delle acquavite o liquori, in base alle determinazioni sopra accennate, non vi ha nulla di positivo; ed ancora esso è affidato ai caratteri organolettici. Poichè i risultati delle analisi sembrano identici o poco diversi, tanto nelle acquavite naturali, quanto in quelle artificiali.

### Alcool metilico.

Per la fabbricazione dei liquori, può essere usato talvolta l'alcool denaturato con alcool metilico e quindi si rende necessaria la ricerca di cotesto alcool.

Wolf ha semplificato il metodo di Tillat nel modo seguente:

Si sciolgono 15 gr. di bieromato di potassio in 130 cme. di acqua, alla soluzione si aggiungono 70 cme. di una soluzione di acido solforico 20 ‰ e 10 cme. dell'alcool in esame. Si lascia in riposo la mescolanza per 20 minuti, poi si distilla: i primi 25 cme. che contengono molta acetaldeide, si buttano; si raccolgono invece i 100 cme. che distillano in seguito. Di questi si pigliano 50 cme., si mettono in una piccola boccia con tappo a smeriglio, si miscono con 1 cme. di dimetilanilina pura e la mescolanza si lascia per 24 ore alla temperatura di 15°-18° C. per fare avvenire la condensazione del metilal, formatosi per la ossidazione dell'alcool metilico, colla dimetilanilina in tetrametildiamidodifenilmetano  $CH^2 = [C^6H^5N(CH^5)^2]^2$ . Dopo questo tempo, il liquido si passa in un palloncino; si aggiungono 4 o 5 gocce di soluzione alcoolica di fenoltaleina, tanta soluzione di soda (160 gr. per litro) fino ad avere una colorazione rossa persistente e si distilla fino a raccogliere 30 cme. Il residuo, rimasto nel palloncino, si diluisce con 25 cme. di acqua, si acidifica con 1 cme. di acido acetico e si aggiunge perossido di piombo in eccesso. Se l'alcool conteneva alcool metilico, anche in quantità inferiore ad 1 ‰ si ha, in seguito alla ossidazione del tetrametildiamidodifenilmetano, una colorazione bleu.

L'alcool puro non dà colorazione alcuna; come pure non danno colorazione molti liquori puri, Rum, Arrak, Assenzio, Kirsch, ecc.

Invece nelle acquavite di vinaccia è stato trovato fino a 0,25 ‰ di alcool metilico, naturalmente contenuti.

In alcuni liquori vi sono alcuni acetali, facenti parte dell'aroma che per condensazione con dimetilanilina, danno colorazione bleu. Questa colorazione però non resiste al riscaldamento.

### Oggetti d'uso.

Gli utensili domestici sono ricoperti nel loro interno o di uno smalto o di una stagnatura che, in certe condizioni, potrebbero cedere il piombo agli alimenti.

Per vedere se gli smalti cedano piombo, si riempie il recipiente con una soluzione 1  $\frac{0}{0}$  di acido acetico e vi si lascia in contatto per 12 ore alla temperatura dell'ambiente (1). Poi la soluzione acetica si versa in un cilindro alto e stretto e le si aggiunge un po' di soluzione di idrogeno solforato. Nel caso che lo smalto abbia ceduto piombo, il liquido diverrà più o meno bruno; nel caso contrario rimarrà scolorato.

### Piombo nelle stagnature.

Il regolamento generale stabilisce che il piombo nelle stagnature non ceda l'1  $\frac{0}{0}$ . Per conoscere approssimativamente se in una stagnatura vi sia la quantità di piombo prescritta dal regolamento o superiore, si ricorre al seguente procedimento:

Si raschia con un coltello la stagnatura dell'utensile da cucina, senza calcare tanto la mano; della raschiatura si pesa esattamente un grammo e si mette in una capsula di porcellana. Si aggiunge un po' di una soluzione di acido nitrico 50  $\frac{0}{0}$  e si riscalda cautamente: la miscela stagno e piombo sarà attaccata dall'acido nitrico con formazione di nitrato di piombo, solubile nell'acqua e di acido metastannico insolubile. Si evapora a secchezza in bagnomaria; il residuo si ripiglia con acqua calda, per disciogliere il nitrato di piombo, si filtra, si lava con acqua distillata più volte residuo e filtro e nel filtrato si dosa il piombo, aggiungendo 1 cme. di soluzione  $N_{10}$  di acido solforico. Si lascia in riposo per un certo tempo e si filtra: se nella stagnatura vi è una quantità di piombo eguale ad 1  $\frac{0}{0}$  il filtrato non dovrà intorbidarsi per ulteriore aggiunta di acido solforico, se invece ve ne ha più dell'1  $\frac{0}{0}$  si intorbiderà. Perché 1 cme. di soluzione  $N_{10}$  di acido solforico può trasformare in solfato 0,10 di piombo, ovvero un gr. per cento, eseguendo la determinazione su di un gr. di stagnatura, come è stato detto dianzi.

### Arsenico.

La stoffa, la carta, ecc. si taglia in piccoli pezzi, si mette in un tubo da saggio insieme ad acido cloridrico puro esente di cloro (2) e si riscalda fino a che la materia colorante si sia disciolta. Si decanta il liquido e si riscalda con una striscia di rame lucente. Se vi ha arsenico nel liquido, si forma sul rame una macchia verde bruna di arsenico-rame. Per la identificazione, si mette la striscia di rame, seccata con carta da filtro, in un tubo da saggio, pure secco, e si riscalda direttamente alla fiamma: nelle parti fredde del tubo si depone un sublimato di anidride arseniosa, la quale, inumidita con acido cloridrico, e trattata con qualche goccia di soluzione di idrogeno solforato o con qualche bolla del gas stesso, passerà al giallo per la formazione di solfuro d'arsenico (Reinsch). Questo metodo ha la sensibilità di 1 : 250.000, e serve anche per ricercare l'arsenico nella birra ed in qualsiasi altro liquido che lo contenga.

(1) All'esposizione di Bruxelles del 1897 gli utensili da cucina erano ricoperti con una vernice esente di piombo e consistente di un borosilicato di soda, allumina e calce. Anche a Napoli si fabbricano utensili da cucina con vernici esenti di piombo dalla ditta Ved.<sup>a</sup> Piccone e figli.

(2) Il cloro libero si toglie all'acido cloridrico o aggiungendo alcune gocce di fenolo, oppure distillandolo più volte con cloruro rameo.

### Aria.

L'aria è un miscuglio di gas e di vapori, ove predominano l'ossigeno e l'azoto ed ove si trovano, in proporzioni variabili, acido carbonico, acqua ed altri gas che accidentalmente vi possono arrivare.

100 volumi di aria contengono:

Ossigeno . . . . .	20,77	vol.
Azoto. . . . .	76,32	»
Argon, Helion, Krypton, Neon, Metargon .	0,94	»
Idrogeno . . . . .	0,00002	»

Cotesta composizione rimane invariata, oppure è poco diversa nell'aria presa in latitudini ed in altitudini diverse: subisce soltanto deboli oscillazioni diurne dovute principalmente all'azione dissolvvente dell'acqua, alla pressione atmosferica ed alla diversa solubilità acquistata dai gas.

L'acido carbonico, considerato come elemento geologico dell'atmosfera, varia da luogo a luogo entro limiti abbastanza ristretti e si può ritenere che esso si trovi nell'aria nella quantità media di 0,3 per mille.

L'umidità, al contrario, è variabilissima, a seconda dello spirare dei venti ed a seconda che la regione sia settentrionale o meridionale, elevata o bassa, continentale o marittima, vicina ai monti o lontana da essi, ecc.

L'aria esercita una influenza benefica sul nostro organismo ed è elemento essenziale di vita; ma, quando per circostanze affatto locali, essa differisce dalla composizione normale, allora esercita una influenza nociva, predisponendo l'organismo alle malattie infettive.

E l'aria può essere anormale, corrotta od insalubre, quando contenga quantità relativamente grandi di acido carbonico, gas di cattivo odore, emananti da cumuli di materie organiche in putrefazione, da fogne mal costruite, da fabbriche industriali ecc.; quando contenga infine una quantità di vapore acqueo molto elevato. Inoltre l'aria può essere tossica quando contenga idrogeno solforato, ossido di carbonio, acetilene, ecc.

L'analisi dell'aria perciò presenta dal lato della salubrità individuale e collettiva un interesse straordinariamente grande. Siccome però non tutte le sostanze, che corrompono l'aria, possono essere determinate o sicuramente riscontrate, come p. es. i

gas delle fogne, i gas putridi, i gas espirati dall'uomo e dagli animali, oltre l'acido carbonico ecc., e siccome, nella maggioranza dei casi, esse sono accompagnate dall'acido carbonico, si è convenuto di considerare corrotta un'aria che contenga una quantità determinata di cotesto gas, ovvero si è convenuto di prendere come indice della corruzione dell'aria l'acido carbonico.

### Determinazione dell'acido carbonico.

I metodi per determinare l'acido carbonico sono molti: ci limitiamo però alla descrizione di quelli più pratici e più spicci, quantunque la loro esattezza non sia oltremodo grande.

*Metodo di Pettenkofer.* — Il metodo di Pettenkofer è fondato sulla proprietà che ha l'acqua di barite di fissare, con grande avidità, l'acido carbonico.

Per la determinazione si usa un boccione esattamente misurato e della capacità di 10 litri circa, seccato nell'interno e chiuso con turacciolo di gomma; una soluzione  $N/_{10}$  di idrato di bario; una soluzione  $N/_{10}$  di acido ossalico ed una soluzione di fenoltaleina (1). Si opera nel modo seguente:

Si porta il boccione nell'ambiente, del quale deve essere esaminata l'aria; si toglie il turacciolo, si introduce fino in fondo un cannello di vetro unito ad un solfietto di gomma, e si soffia aria nell'interno fino a scacciare quella contenutavi e che apparteneva ad altro ambiente. Si chiude col turacciolo di gomma, si nota la temperatura e la pressione, ed il boccione si porta nel luogo dove deve essere eseguita la determinazione. Quivi si toglie parzialmente il turacciolo e si versano dentro 100 emc. di idrato di bario, si richiude, si fa muovere adeguatamente la soluzione nell'interno inclinando in vari sensi il boccione e si considererà assorbito l'acido carbonico dopo che siano passati 10 o 15 minuti. Si versa allora il contenuto liquido, colla massima rapidità possibile in una boccetta da potersi chiudere con turacciolo di gomma e si lascia depositare. Poi si estraggono per mezzo di una pipetta, 25 emc. del liquido limpido, si versano in un matraccio Erlemeyer, e si titolano con soluzione di acido ossalico, servendo la fenoltaleina come indicatore.

Siccome le soluzioni impiegate si corrispondono volume a volume, ovvero un volume determinato di soluzione di barite è neutralizzato perfettamente da un egual volume di soluzione di acido ossalico, per neutralizzare i 25 emc. di barite ci vorranno ora 25 emc. di acido ossalico meno quella quantità di emc. corrispondenti alla soluzione neutralizzata dall'acido carbonico, contenuto nell'aria esaminata. Cotesta differenza, moltiplicata per 4, poichè dei 100 emc. di barite messi in reazione, ne abbiamo presi solo 25, ci darà in

(1) La soluzione  $N/_{10}$  di barite si prepara sciogliendo gr. 8,55 di idrato di bario purissimo in un litro di acqua distillata. Siccome però, facendo in questo modo, non si ottiene mai la soluzione che abbia il titolo suddetto, si deve correggere, aggiungendo acqua, oppure barite a seconda che sia forte o debole, servendosi della soluzione  $N/_{10}$  di acido ossalico e, come indicatore, della fenoltaleina. La soluzione  $N/_{10}$  di acido ossalico si prepara, sciogliendone gr. 6,30 in un litro di acqua distillata.

cmc. la quantità di soluzione di barite neutralizzata dall'acido carbonico. Moltiplicando ancora questo numero per 0,0022, si avrà in gr. la quantità di acido carbonico contenuto in 10 litri od in un altro volume determinato d'aria, diminuito di 100 cmc. equivalenti alla quantità d'aria scacciata dai 100 cmc. di soluzione di barite. Costoso prodotto, per mezzo di una proporzione semplice, si riferisce a 1000 o ad un metro cubo d'aria.

Per trasformare il peso dell'anidride carbonica trovata, in volume, si moltiplica per mille e si divide per 1,9774, che è il peso di un litro di anidride carbonica, presa a 0° e 760 millimetri di pressione. Ma per riferire questo volume di acido carbonico, all'aria esaminata, sarà necessario anche questa di ridurla a 0° e 760, ciò che si fa col mezzo della seguente formola:

$$V = F' \frac{B}{760(1 + \alpha t)}$$

ove  $F'$  rappresenta il volume dell'aria umida a 0° e 760,  $F'$  il volume d'aria contenuta nel boccione, diminuita di 100 cmc.,  $B$  la pressione barometrica ridotta a 0°,  $t$  la temperatura dell'ambiente,  $\alpha$  il coefficiente di dilatazione dei gas (0,00367).

Questo metodo dà risultati un po' superiori alla realtà, perchè una piccola porzione di barite è saturata dall'acido carbonico dell'aria ove si fanno le titolazioni, venendo con essa a contatto più di una volta. Contuttociò cotesto metodo dà dei risultati, che praticamente si possono considerare soddisfacenti.

*Metodo di Wolpert.* — Per determinare praticamente l'acido carbonico in un ambiente, Wolpert ha ideato un piccolo apparecchio, al quale ha dato il nome di *carboacidimetro* (fig. 264). Questo consiste di un cilindro di cristallo graduato in cmc. e portante alcune indicazioni che si riferiscono alla qualità dell'aria. Così:

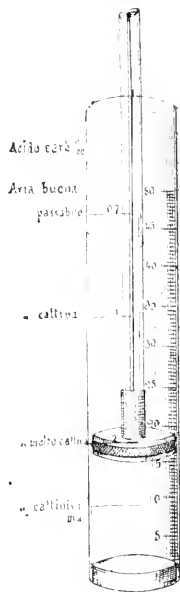


fig. 264.

Aria buona	corrisponde a cmc. 50	ovvero essa contiene in 1000 litri d'aria cmc. di $CO_2$ 0,0
Aria respirabile	» » 47	» » » » 0,7
Aria cattiva	» » 33	» » » » 1,0
Aria molto cattiva	» » 18	» » » » 2,0
Aria pessima	» » 10	» » » » 4,0

Nel cilindro si muove uno stantuffo metallico, guarnito di gomma elastica, affidato ad un tubo di vetro resistente con apertura capillare, libero nei due estremi. Esso si muove a sfregamento dolce e, quando si eleva, fa entrare aria nel cilindro solo per l'apertura libera del tubo, poichè gli orli combaciano perfettamente col vetro.

Insieme all'apparecchio vanno unite un certo numero di capsule di celluloido, contenenti una quantità pesata di alcali caustico ed una quantità arbitraria di fenoltaleina.

Volendo ora eseguire la determinazione dell'acido carbonico, si incomincia dallo sciogliere in una bottiglia, della capacità di 500 cmc., il contenuto della capsula di celluloido, con 15 cmc. di alcool e si aggiunge poi tanta acqua distillata bollita da completare il volume di 500 cmc. Preparata la soluzione che ha un rosso cremisi bellissimo, si estrae completamente lo stantuffo e nel cilindro di cristallo si versano, per mezzo di una apposita pipetta, 2 cmc. della soluzione alcalina, avendo cura di non soffiarsi dentro e di versare il liquido tenendo la punta della pipetta vicino al fondo. Si introduce nuovamente lo stantuffo nel cilindro, facendolo scendere fino al segno 10 — aria pessima — si chiude, con cappuccetto di gomma, l'estremo libero del tubo capillare e si agita il liquido. Se avvenga la decolorazione, vuol dire che l'aria esaminata contiene il 4  $\frac{0}{100}$  di acido carbonico; se non avvenga la decolorazione, si toglie il cappuccetto di gomma, si innalza lo stantuffo fino al segno 18 — aria molto cattiva — si rimette il cappuccetto e si torna ad agitare. Se il liquido si decolori, vuol dire che l'aria contiene il 2  $\frac{0}{100}$  di acido carbonico, se non si decolori si procede, come si è detto or ora, introducendo aria fino a decolorazione completa del reattivo.

Questo metodo, che ha il pregio della comodità e della semplicità, poichè l'apparecchio è piccolo e maneggevole, non ha il pregio della esattezza e le determinazioni non rappresentano cifre assolute, ma cifre relative ed approssimate. Quindi l'apparecchio di Wolpert, più che per la determinazione dell'acido carbonico, è adattato per far conoscere se l'aria di un ambiente sia buona o cattiva soltanto.

L'acido carbonico è un gas che a dose elevata esercita un'azione dannosa sull'organismo animale: un'aria che ne contenga 2 volumi per metro cubo è già causa di disturbi, la dose che però è manifestamente dannosa all'uomo oscilla tra 3-6  $\frac{0}{100}$ .

### Ricerca dell'ozono.

Si fa passare attraverso una soluzione acquosa di metafenilendiammina acidificata con acido cloridrico un grande volume d'aria ed in presenza di ozono il liquido si colorerà in rosso carico. La reazione è sensibilissima e permette di differenziare l'ozono dall'acido nitroso e dall'acqua ossigenata che non danno cotesta reazione (Erlwein e Weyl).

### Determinazione dell'umidità.

L'umidità dell'aria si determina praticamente, meglio che cogli igrometri, collo psierometro di August, che oggi è usato in tutte le stazioni meteorologiche italiane (fig. 265). Esso è formato di due termometri, graduati in de-

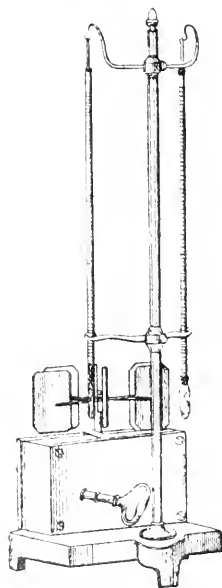


fig. 265.

cimi e perfettamente uguali tra loro, affidati, mercè un'asticella trasversale, ad un sostegno, alla base del quale è situata una ventola che si può mettere in movimento mediante un'orologeria.

Si opera nel modo seguente: si ricopre con un pezzo di mussolina sottile, il bulbo di uno dei termometri e si bagna con acqua: si mette in moto la ventola, caricando l'orologeria, e si fa agire per 10 minuti circa. Durante questo tempo, si osserva se la temperatura nei due termometri rimanga costante: quando ciò sia, si legge e si nota.

Le temperature indicate dai due termometri non saranno identiche, nella maggioranza dei casi; sarà più bassa, cioè, quella segnata dal termometro bagnato, poichè evaporandosi l'acqua della pezzuola si produce un raffreddamento, il quale è in strettissimo rapporto colla quantità di acqua evaporata e, per conseguenza, colla maggiore o minore secchezza dell'aria.

TABELLA INDICANTE LA TENSIONE MASSIMA DEL VAPORE D'ACQUA  
DA  $-10^{\circ}$  +  $40^{\circ}$  IN MILLIMETRI DI Hg.

TAB. 77.

Temperatura	Tensione mm.	Temperatura	Tensione mm.	Temperatura	Tensione mm.
-10	2.092	7	7.492	24	22.484
9	2.265	8	8.017	25	23.550
8	2.433	9	8.574	26	24.988
7	2.655	10	9.165	27	26.505
6	2.873	11	9.792	28	28.101
5	3.108	12	10.457	29	29.782
4	3.363	13	11.162	30	31.548
3	3.637	14	11.908	31	33.406
2	3.934	15	12.699	32	35.359
1	4.254	16	13.536	33	37.411
0	4.600	17	14.421	34	39.565
+ 1	4.940	18	15.357	35	41.827
2	5.302	19	16.346	36	44.200
3	5.687	20	17.391	37	46.690
4	5.097	21	18.495	38	49.300
5	6.534	22	19.659	39	52.040
6	6.993	23	20.888	40	54.900

Perciò, quando l'aria è molto umida, l'evaporazione sarà piccola e piccolo sarà l'abbassamento della temperatura; quando l'aria è satura di vapor d'acqua, l'evaporazione sarà nulla e perciò la temperatura del termometro

bagnato sarà eguale a quella del termometro asciutto; quando l'aria è secca, l'evaporazione sarà abbondante e forte sarà l'abbassamento della temperatura.

Dalla temperatura letta nei due termometri e dalla differenza tra le due temperature si ricava l'umidità dell'aria, ricorrendo alle tavole psicrometriche, oppure calcolandola colla formola seguente:

$$F = F^1 0,000749 H(t - t^1) + 0,000000079 H^2 (t - t^1)^2$$

ove  $F$  indica la tensione massima del vapore d'acqua contenuto nell'aria, al momento dell'esperienza (1);  $F^1$  la tensione del vapore d'acqua alla temperatura  $t^1$ ; 0,000749 una costante media, che però dovrebbe essere determinata ogni volta che si collochi lo psicrometro in luogo diverso;  $t$  la temperatura del termometro asciutto;  $t^1$  la temperatura del termometro bagnato;  $H$  la pressione barometrica, ridotta a 0° e 0,000000079 un'altra costante.

Si chiama *umidità assoluta* la quantità di vapor d'acqua espressa in grammi, contenuta in un metro cubo d'aria al momento della determinazione: *umidità massima* o *tensione massima* la quantità di vapor di acqua che può contenere un metro cubo d'aria ad una data temperatura: *umidità relativa*, il rapporto che esiste tra l'umidità assoluta e l'umidità massima. Questo rapporto si esprime in centesimi ed è chiamato anche *frazione di saturazione*. Se, p. es., l'umidità relativa è 0,690, vuol dire che nell'aria ci sono 69 centesimi dell'umidità che potrebbe contenere alla stessa temperatura se fosse satura: la differenza tra l'umidità massima e l'umidità assoluta è il deficit di saturazione. Questo rappresenta il *vero stato igrometrico dell'aria*, poichè misura la tendenza di questa a sciogliere una maggiore o minore quantità di acqua, ovvero misura il suo potere essiccante.

### Umidità degli ambienti abitabili.

La determinazione dell'umidità degli ambienti abitabili, per conoscere la loro salubrità o meno, non è cosa nè facile nè semplice, tanto che possiamo dire di non avere per ciò un metodo sicuro a cui affidarci e nemmeno norme fisse per un giudizio concorde. Contuttociò, è consigliabile di ottemperare alle seguenti regole.

Si chiude, quanto più ermeticamente sia possibile, l'ambiente, di cui si vuol conoscere lo stato di umidità, scegliendo una giornata secca, e si lascia così per 48 ore. Poi si determina l'umidità dell'aria dell'ambiente e contemporaneamente dell'aria esterna collo psicrometro, come è stato detto dianzi, avendo cura di eseguire le determinazioni colla massima sollecitudine.

(1) Praticamente si ammette che la tensione, espressa in millimetri, sia eguale al peso del vapor d'acqua, espresso in grammi, contenuto, alla stessa temperatura, in un metro cubo d'aria.



Anche così facendo, non siamo sicuri di determinare l'umidità massima che dalle pareti può essere passata e può passare ancora nell'aria dell'ambiente, perchè, per effetto dei cambiamenti della temperatura dell'aria esterna, si stabiliscono delle correnti per cui l'aria dell'ambiente e l'esterna tendono ad equilibrarsi e perciò tendono ad equipararsi le due umidità. Oltre a ciò, i cambiamenti nella umidità dell'aria esterna potrebbero non essere intesi rapidamente dall'aria dell'ambiente in esame ed avere così una umidità esterna elevata ed una umidità interna meno elevata, e viceversa una umidità esterna meno elevata ed una interna più elevata; per cui anche il criterio del confronto tra le due umidità può essere fallace o, per lo meno, non avere quella importanza che gli si vuole attribuire. Nè vale, ad attenuare gli inconvenienti notati, la disposizione, adottata in alcuni regolamenti locali di igiene, di prescrivere il grado di umidità relativa che deve avere l'aria esterna il giorno che si deve chiudere l'ambiente in esame; perchè nelle 24 o 48 ore di chiusura, l'umidità dell'aria può variare e diverse possono essere le condizioni nel giorno che si deve fare la determinazione della umidità dell'ambiente. Quindi più importante, per il nostro scopo, deve essere ritenuta la determinazione della umidità degli intonachi e dei materiali dei muri, poichè sono essi che effettivamente cedono l'umidità all'aria degli ambienti che li lambisce.

Per tale determinazione sono stati proposti vari metodi, dei quali solo due meritano di essere consigliati e descritti.

**PRELEVAMENTO DEL CAMPIONE.** — Per mezzo della trivella incanalata di Tursini o di un comune trapano da falegname, si trivellano i muri in più punti ed a diverse altezze ed il materiale che ne deriva si raccoglie in un vaso a bocca larga e con tappo finamente smerigliato. In questo modo si raccoglie un campione medio della malta e dei materiali da costruzione, che conterrà una umidità media.

**Metodo Markl-De Rossi.** — Per determinare cotesta umidità possiamo servirci del metodo Markl, che consiste nel fare assorbire l'umidità di un determinato peso di malta ad un alcool concentrato e nella esatta determinazione del grado di cotesto alcool prima e dopo l'immersione, mediante alcoolometri centesimali in peso. Il calcolo dell'acqua si fa partendo dalla differenza delle due gradazioni dell'alcool e riferendo l'acqua trovata a 100 gr. di malta. A questo metodo De Rossi ha portata una modificazione che consiste soprattutto nella sostituzione degli alcoolometri con galleggianti semplici, trascurando la determinazione quantitativa dell'acqua contenuta nella malta e contentandosi di conoscere se essa oltrepassi o non un dato limite da ritenersi come il massimo tollerabile. Per tale scopo, egli ha fatto costruire due piccoli galleggianti di peso specifico leggermente diverso, tali, cioè, che avessero una densità rispettivamente eguale a quella di due alcool molto concentrati, contenenti però una quantità diversa di acqua. Uno ha la densità di un alcool a 98,8, l'altro di un alcool di 98,1 all'incirca alla temperatura di 15° C.: questi due galleggianti sono sensibilissimi per piccole variazioni della densità dei liquidi nei quali sono immersi. A 100 emc. di alcool di

peso specifico eguale a quello del galleggiante più leggero occorre aggiungere 0,74 cmc. di acqua distillata per ottenere un alcool di peso specifico eguale a quello del secondo galleggiante, sempre alla temperatura di 15° C.

Ciò posto, è facile conoscere se l'aggiunta della malta all'alcool ha fatto aumentare l'acqua di una quantità superiore od inferiore al limite stabilito.

La ricerca si eseguisce nel modo seguente:

In un recipiente cilindrico di vetro *A* (fig. 266) del diametro interno di 2 cm. e della capacità di circa 70 cmc. si mette, nel fondo, un batuffolo di lana di vetro, non troppo compresso, dell'altezza di circa 1 cm. Si chiude il robinetto, posto nella parte inferiore del tubo e con una pipetta si versano nel recipiente 40.5 cmc. di alcool della densità eguale a quella del galleggiante più leggero; vi si aggiungono

20 gr. di malta, pesata coll'esattezza del centigrammo, si chiude superiormente col tappo smerigliato e si agita per 4 o 5 minuti. Si fissa il tubo ad un sostegno, si sostituisce il tappo smerigliato con un turacciolo di gomma forato, attraverso il quale, colla interposizione di un tubino di vetro *B* ripieno di cloruro di calcio, può esercitarsi una pressione sul liquido per mezzo di una comune palla di gomma.

Ad una grossa provetta *C*, chiodibile con tappo smerigliato, perfettamente asciutta e contenente il secondo galleggiante, si adatta un turacciolo di gomma a due fori, in uno dei quali si introduce il tubo sottile che termina l'apparecchio di agitazione, nell'altro un tubino di vetro a filato, per mantenere la comunicazione tra l'aria interna e l'esterna.

Messa a posto la provetta, si apre il robinetto e per mezzo della pressione esercitata dalla palla di gomma, si ottiene la filtrazione lenta ma perfetta dell'alcool. Quando ne è filtrata una quantità sufficiente a sommergere completamente il galleggiante, si distacca la provetta dall'apparecchio, si chiude col suo tappo a smeriglio, si immerge in un bagno d'acqua a 15° C. e si osserva se il densimetro galleggi o non: nel primo caso la malta ha una quantità di acqua eguale od inferiore al limite, nel secondo una quantità superiore al limite.

Per l'applicazione di questo metodo sarà necessario avere tanti galleggianti quanti possono essere i limiti considerati dai varii regolamenti locali. Cosa non difficile ad ottenersi, perchè semplicissima deve esserne la costruzione e la taratura, rispetto a quantità diverse di acqua contenute in un alcool.

De Rossi ha fatto costruire solo due galleggianti, uno per la graduazione dell'alcool tipo o concentrato, l'altro per una diluizione che, mantenendo

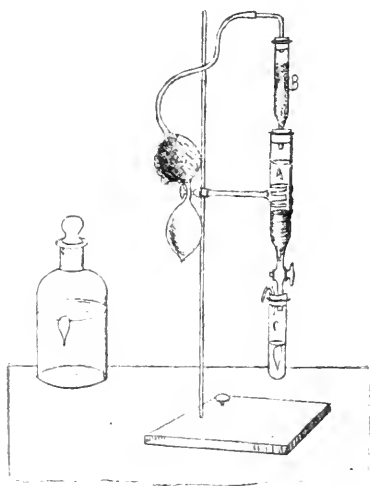


fig. 266.

le prescrizioni quantitative sopra notate, corrisponde ad una quantità di acqua in 100 gr. di malta di 1,50.

In ogni modo, invece dei galleggianti, si possono sempre usare due piccoli alecolometri in peso, la cui asta non comprenda più di 4 o 5 gradi, e tornare così al metodo Markl colle precauzioni suggerite dal De Rossi.

*Metodo Glüssgen.* — Migliori risultati dà il metodo Glüssgen, specialmente tenendo conto delle modificazioni portate all'apparecchio da Casagranti. Esso è fondato sulla diminuzione di peso delle malte riscaldate a 110° C. per 4 ore in un ambiente privo di umidità e di acido carbonico.

L'apparecchio che serve per la determinazione, è il seguente:

Un manicotto di ottone a doppia parete (fig. 267), largo all'esterno cm. 7, all'interno cm. 4,5 e lungo cm. 63, è chiuso, in un estremo *a*, con una placca metallica saldata a fuoco, nel cui mezzo è fissato un tubo *b*, il quale si mette in comunicazione con una bottiglia contenente soluzione di potassa o soda caustica, 2 torrette contenenti potassa caustica in pezzetti ed una

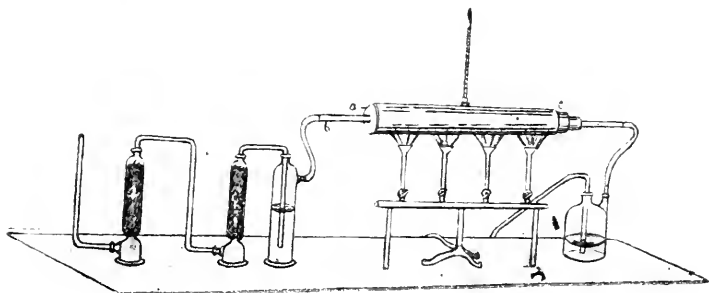


fig. 267.

bottiglia contenente acido solforico concentrato. All'altro estremo è saldato a fuoco la femmina di una chiavarda del diametro dello stesso tubo interno.

A questa femmina si adatta il maschio *c* che è fornito di un tubo il quale si mette in comunicazione con una bottiglia ad acido solforico, la quale a sua volta è in comunicazione con una pompa aspirante a caduta di acqua.

Il manicotto è fornito ancora di un foro *i* che comunica colla parte interna e per il quale, mediante un tappo di sughero, si introduce un termometro che segna la temperatura precisa alla quale sono esposti i campioni di malta. Tutto l'apparecchio riposa sopra una ribalta con varii becchi di gas.

Per fare la determinazione, si pesano 4 o 5 gr. di malta in apposite navicelle di platino o di porcellana e si posano sopra una doccia metallica, o meglio di porcellana, mobile, che una volta caricata, si situa nell'interno del manicotto. Si chiude l'apparecchio, si mette in comunicazione da ambo le parti colle torrette e colla bottiglia contenente acido solforico, e si fa funzionare la pompa o un aspiratore qualsiasi, avvertendo che la corrente non sia troppo rapida o violenta da asportare dalle navicelle le parti di malta più sottili. Contemporaneamente si accendono i becchi di gas, regolandoli in modo da raggiun-

gere una temperatura interna di 110° C. e così si mantiene per 4 ore circa. Poi si smorzano i becchi, si fa completamente raffreddare l'apparecchio, lasciando sempre passare aria priva di acido carbonico e di acqua, si estrae la doccia, e le navicelle si mettono in essiccatore con cloruro di calcio e si pesano. Dalla perdita di peso si calcola la quantità per cento di acqua ceduta dalla malta.

Si dichiarerà umido un ambiente quando l'umidità relativa dell'aria contenutavi sia superiore a 70 e sia superiore sempre alla umidità relativa dell'aria esterna ed in contatto coll'ambiente, e quando l'umidità delle pareti sia superiore al 3%.

È con un po' di titubanza che sono stati scelti questi limiti, per dare qualche cosa di concreto nel presente trattato, perchè i vari sperimentatori sono molto discordi tra loro. La postura delle abitazioni, del resto, deve avere una grandissima influenza su questi limiti, ed è desiderabile perciò che essi siano determinati per ogni città e fissati dal regolamento locale d'igiene.

### Ossido di carbonio.

L'ossido di carbonio, come corpo non saturo, ha una grande instabilità e sottrae ossigeno a tutte le sostanze che possano cederlo e colle quali esso viene in contatto.

Per ricercare l'ossido di carbonio in un ambiente, si fa passare un grande volume di aria attraverso un tubo immerso nell'acqua calda e contenente una soluzione di cloruro di palladio.

L'ossido di carbonio riduce il cloruro di palladio, liberando il palladio metallico, che si separa sotto forma di una polvere nera (Fodor). La reazione avviene secondo l'equazione seguente:



Questa reazione è però comune all'acetilene e ad altri gas o vapori.

Una soluzione di sangue defibrinato serve meglio per la ricerca dell'ossido di carbonio. Si fa passare, cioè, attraverso ad essa un grande volume di aria e si esamina allo spettroscopio dopo averlo trattato con solfuro di ammonio. Se la soluzione di sangue contenga ossiemoglobina, si ridurrà, in queste condizioni, in emoglobina e invece di due bande che occupano la regione dello spettro indicata dalle lunghezze d'onda seguenti:

$$\alpha = \lambda \text{ 592-578,1}$$

$$\beta = \lambda \text{ 557-529}$$

darà, allo spettroscopio, una sola banda, con una lunghezza d'onda 554,7; se invece il sangue abbia fissato ossido di carbonio, non potrà più ridursi in emoglobina e darà sempre allo spettroscopio due bande simili a quelle dell'ossiemoglobina, ma un po' più grandi, spostate verso il violetto e limitate dalle lunghezze d'onda seguenti:

$$\alpha = \lambda \text{ 586-562}$$

$$\beta = \lambda \text{ 551-526.}$$

Lo spostamento è in rapporto inverso del tempo che l'*CO* ha agito nel sangue (Formánek).

L'ossido di carbonio si può ricercare anche nel modo seguente:

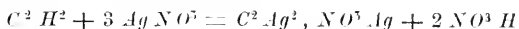
A 20 cmc. di una soluzione di sangue 20 ‰ si fa assorbire l'ossido di carbonio contenuto in 10 o 15 litri d'aria e poi si aggiungono alcuni reattivi precipitanti dell'albumina. Cioè, a 5 cmc. si aggiungono 15 cmc. di una soluzione di tannino 1 ‰, si mescola e si lascia in riposo per 24 o 48 ore. Il precipitato del sangue contenente ossido di carbonio, dopo questo tempo, è divenuto rosso bruno, mentre quello del sangue normale, bruno grigio.

100 cmc. si trattano con 5 cmc. di soluzione di ferrocianuro di potassio 20 ‰ e 1 cmc. di acido acetico (1 vol. di acido acetico e 2 vol. di acqua). Nel sangue contenente ossido di carbonio, il precipitato diviene immediatamente bruno rosso, nel sangue normale, bruno grigio. La differenza di colorazione scema già dopo mezz'ora e scompare dopo 2 o 6 giorni.

Con queste reazioni si può scoprire nell'aria una quantità di ossido di carbonio di 0,023 ‰ (Welzel).

### Acetilene.

L'acetilene si ricerca nell'aria nel modo proposto da Vitali. Si fa passare, cioè, una quantità piuttosto considerevole di aria per mezzo di un aspiratore, attraverso l'acetone contenuto in un grosso tubo da saggio, oppure in altro recipiente adattato: l'acetilene che è solubilissimo nell'acetone, vi rimane e vi si concentra. Sull'acetone si fanno le reazioni per ricercare l'acetilene: si tratta, cioè, a freddo, con nitrato d'argento, e si avrà un precipitato bianco in presenza di acetilene. Cavastelon ha dimostrato che la reazione procede nel modo seguente:



ed anzi dall'acido nitrico liberato nella reazione calcola la quantità di acetilene.

### Idrogeno solforato.

L'idrogeno solforato si ricerca nel modo seguente:

Si fa passare attraverso una mescolanza di due soluzioni acquose di cloridrato di paraamidodimetilanilina e cloruro ferrico, un grande volume di aria e se questa contiene idrogeno solforato anche nella proporzione di 0,000072 ‰ colorerà il reattivo in bleu per la formazione di bleu di metilene (Meyer).

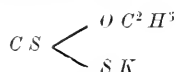
### Vapori di mercurio.

Per l'assorbimento di piccole quantità di mercurio nell'aria serve bene lo jodio. Si mettono alcune laminette di jodio in un tubo 2 o 3 mm. largo e si fa passare attraverso ad esso 50 o 100 litri di aria secca. La corrente d'aria deve essere regolata in modo che 1 litro passi in 8 o 10 minuti. Il

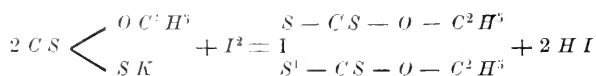
joduro di mercurio formatosi si scioglie in joduro di potassio e la soluzione alcalina si tratta con idrogeno solforato. La colorazione ottenuta si paragona ad una soluzione diluita di sublimato, trattata egualmente, e si può così determinare la quantità di mercurio contenuto in quel determinato volume di aria.

### Solfuro di carbonio.

Per ricercare il solfuro di carbonio, si fa passare l'aria attraverso ad una soluzione concentrata di potassa alcoolica. Il solfuro di carbonio è trattenuto e trasformato in xantogenato potassico



Questo si determina col metodo di Gastin, acidificando debolmente il liquido alcalino con acido acetico, saturando l'acidità eccessiva con carbonato di calcio, aggiungendo un po' di soluzione d'amido, come indicatore, diluendo con egual volume di acqua e facendo colare da una buretta una soluzione titolata di jodio nel joduro potassico  $N_{33}$ , fino ad avere colorazione bleu netta del liquido. Lo jodio trasforma l'acido xantogenico in ipersolfuro di xantogeno ed acido jodidrico



A 126,5 milligrammi di jodio corrispondono 76 mmg. di solfuro di carbonio, ovvero ad 1 mmg. di solfuro di carbonio corrispondono mmg. 1.672 di jodio.

### SOSTANZE O MEZZI CHE SERVONO PER L'ILLUMINAZIONE ARTIFICIALE.

La necessità di dovere illuminare artificialmente gli ambienti e le città, durante la notte, ha spinto alla ricerca di sostanze combustibili o di mezzi che dessero la luce migliore possibile.

I requisiti che deve possedere una luce artificiale sono i seguenti:

- 1° che il colore sia molto prossimo a quello solare;
- 2° che abbia una intensità media;
- 3° che sia costante;
- 4° che vizi l'aria meno che sia possibile;
- 5° che non riscaldi eccessivamente;
- 6° che offra il minor numero possibile di pericoli di esplosione o d'incendi;
- 7° che costi poco.

Passiamo in rassegna le varie materie usate per questo scopo, incominciando dalla loro preparazione e raffinazione, proseguendo alla descrizione o determinazione delle loro proprietà e, quando sia necessario, alla constatazione della loro purezza e terminando col giudizio della maggiore o minore loro bontà in base ai postulati igienici, sopra trascritti.

### **Candele steariche.**

L'industria dell'acido stearico, nata poco più di mezzo secolo fa, comprende due fasi ben distinte: la prima ha per iscopo di trasformare le materie grasse neutre in acidi più o meno colorati, con processi chimici assai diversi; la seconda ha per iscopo di separare, con mezzi puramente meccanici, gli acidi liquidi colorati dai solidi bianchi e di trasformare questi in candele.

**SAPONIFICAZIONE.** — I grassi neutri si saponificano attualmente mediante la doppia azione della calce e del vapore sotto la pressione di 8 atmosfere. In un grande autoclave si introducono 2000 kg. di grasso, 1000 litri di acqua, contenente in sospensione 100 kg. di calce, e la massa si tratta con vapor d'acqua, proveniente prima da generatori a bassa pressione, 4 atmosfere, poi da generatori ad alta pressione, 10 o 12 atmosfere, e situati ad una certa distanza dall'autoclave, per evitare ogni pericolo d'incendio: si fa salire la pressione fino al limite di 8 atmosfere, 172° C., mantenendola per 4 ore. Si fa raffreddare a 130° circa e, per mezzo di un robinetto, si fa uscire l'acqua carica di glicerina che si raccoglie in una vasca, ed in seguito si dirige in un'altra vasca di piombo contenente acido solforico, la materia grassa saponificata, che esce, allo stato pastoso, dallo stesso robinetto. La decomposizione del sapone calcareo, a contatto dell'acido solforico diluito, avviene quasi istantaneamente: si forma solfato di calcio che rimane in soluzione o si precipita ed acidi grassi liberi che galleggiano sull'acqua. Si lavano gli acidi grassi con vapore d'acqua, per eliminare l'acido solforico, e si lasciano poi raffreddare e consolidare. La resa, con questo processo di saponificazione, è di 93,5 a 94 % di acidi grassi grezzi, in media 45 % di acidi grassi fusibili tra 54° e 55° C.

Gli acidi grassi, così ottenuti, non possono servire all'a fabbricazione delle candele, perchè fondono a temperatura troppo bassa, contenendo molto acido oleico, liquido alle temperature ordinarie. È necessario, adunque, di separare l'acido oleico dagli acidi palmitico e stearico, solidi e fusibili a 70° C. circa, che nella industria pigliano il nome unico di stearina.

**PREPARAZIONE DELLA STEARINA.** — Gli acidi grassi fusi si versano in cassette rettangolari metalliche e si fanno cristallizzare lentamente, lasciandoli in riposo per 12 o 24 ore, a seconda della stagione; poi il contenuto si versa in pezze di lana o di tela speciale, si avvolge convenientemente e, così racchiuso, si sottopone alla pressione idraulica a freddo. Per questo scopo, si

usa una pressa verticale, che si carica mettendo sulla piattaforma inferiore, ed a fianco l'uno dell'altro 2, 3 o 4 di cotesti sacchi, secondo la larghezza della piattaforma stessa. Sopra questi si mette un secondo strato, poi una lastra di zinco e così si seguita la carica fino al piatto superiore: con una leggera pressione, di tanto in tanto, si assesta la carica e si completa con nuovi sacchi. Quando la carica è completa si comprime facendo agire la pressa in modo graduale e lento: l'acido oleico scola e si raccoglie in basso e nelle pezze o sacchi resta una sostanza solida bianca, che è una mescolanza degli acidi palmitico e stearico. Questi acidi si sottopongono ancora ad una depurazione, mettendoli in una vasca, contenente una soluzione di acido solforico a 3° B. riscaldata alla temperatura di 60° o 70°. Gli acidi fondono e cedono la calce ed il ferro, che possono contenere ancora, all'acido solforico: dopo un'ora di contatto, si decantano in un'altra vasca contenente dell'acqua pura e lì si lavano fino a che le acque non siano più acide. Allora gli acidi grassi, perfettamente limpidi ed incolori, si versano in recipienti metallici ove si fanno consolidare, oppure si colano entro forme apposite, nel centro delle quali è teso uno stoppino, imbevuto di acido borico o di fosfato d'ammonio, per la fabbricazione delle candele.

Le candele di stearina non danno fiamma fuliginosa, se non sono fabbricate, come usualmente, con una miscela di stearina e paraffina. Danno luce smorta ed una fiamma che oscilla continuamente: per questo si può dire che sia il mezzo illuminante peggiore.

Per una intensità di 100 candele normali, si consumano, in un'ora, gr. 920 di stearina, con una produzione di kg. 0,936 di acqua, di gr. 2,443 di acido carbonico e di 7900 calorie e con una spesa di L. 2,07.

#### **Candele di paraffina.**

La paraffina è un miscuglio di diversi idrocarburi solidi, che si ricava principalmente dal catrame di lignite e dai prodotti di distillazione degli schisti bituminosi: si ricava anche dalla ozocerite e da alcune qualità di petrolio grezzo. La paraffina depurata si presenta in forma di una massa solida, bianca, semitrasparente che fonde tra 45° e 65° e non si saponifica cogli alcali caustici in soluzione alcoolica, come fa la stearina. Colla paraffina, generalmente mescolata col 15% circa di stearina, per darle maggiore rigidità, si fabbricano candele, che sono bianche e traslucide e che servono anche per illuminazione domestica.

Coteste candele danno fiamma fuliginosa, specialmente se fabbricate con paraffina, fondente a temperatura bassa; danno luce un po' più forte delle candele simili di stearina ed una fiamma oscillante.



Per una intensità di 100 candele normali, si consumano in un'ora gr. 770 di paraffina, con una produzione di kg. 0,911 di acqua, di gr. 2,298 di acido carbonico, di 9200 calorie e con una spesa di L. 1,83.

### Petrolio.

Dalle miniere si ha ordinariamente un olio di colore bruno, che alla luce riflessa, sembra verdastro, e che è una mescolanza di idrocarburi liquidi e solidi: esso ha una consistenza simile a quella delle melasse ed una densità che varia da 0,78 a 0,92.

Per rendere quest'olio adatto alla illuminazione, è necessario di spogliarlo dalle sostanze troppo volatili e da quelle troppo pesanti: ciò si fa sottoponendolo nelle raffinerie, ad una distillazione frazionata.

Le grandi storte cariche si riscaldano, mediante il vapore, per evitare incendi, tra 45° e 70° e distillano i prodotti leggerissimi assai infiammabili, e capaci di fare coll'aria dei miscugli detonanti. Questi prodotti costituiscono l'*Petere di petrolio*, di cui la densità è, presso a poco, 0,65. Si eleva poi la temperatura e si raccoglie il liquido che distilla tra 75° e 120°, infiammabilissimo ancora e che va sotto il nome di *nafta*, *essenza di petrolio* o *benzina*. La densità di questo liquido varia da 0,702 a 0,740. Si eleva ancora la temperatura a 150° e poi fino a 280° e si raccoglie in tutto questo periodo l'olio da ardere, chiamato anche *Kérosène* o *petrolio*. La densità di questo varia da 0,780 a 0,810. Si eleva la temperatura progressivamente fin presso 400° e si raccolgono oli pesanti, generalmente impiegati per la lubrificazione delle macchine, la cui densità varia da 0,830 a 0,900. Finalmente a 400° distilla la paraffina, che si raccoglie in recipienti posti in ghiacciaja ed ove si congela. La paraffina congelata si comprime in presse idrauliche e lascia scolare un olio che serve come lubrificante e che va sotto il nome di *olio di paraffina*. La porzione di olio che distilla tra 150° e 280°, prima di esser messa in commercio, come olio da illuminazione, deve essere raffinata, sottoponendola prima ad un trattamento con acido solforico, poi, dopo lavatura con acqua, ad un altro trattamento con soda caustica. Dopo ciò, si ottiene un liquido molto fluido che, visto per riflessione, ha una fluorescenza bluastra e che è un ottimo materiale d'illuminazione.

Il petrolio, bruciato in lampade a fiamma lineare o meglio a fiamma rotonda, dà una luce chiara ed intensa ed una fiamma costante.

Per una intensità luminosa di 100 candele normali, si consumano in un'ora, con una lampada con fiamma lineare piccola, 600 gr. di petrolio, con una produzione di 0,217 kg. di acqua,

di gr. 549 di acido carbonico, di 7200 calorie e con una spesa di circa 48 centesimi.

Per la stessa intensità luminosa e con una lampada con fiamma rotonda grande si consumano 200 gr. di petrolio con una produzione di 0,072 kg. di acqua, di 0,183 gr. di acido carbonico, di 3300 calorie e con una spesa di circa 16 centesimi.

Gli scoppi e gli incendi che si possono avere col petrolio sono causati dai prodotti volatili presenti, che si infiammano a temperature basse e che possono formare coll'aria miscugli detonanti.

Secondo Chandler, l'esplosione più violenta si produce quando 1 parte di vapori di petrolio sia mescolata con 8 o 9 parti d'aria: 1 parte d'aria e 3 parti di vapori di petrolio producono una leggera detonazione: 1 parte d'aria con 1 parte di vapori di petrolio non produce più alcuna detonazione.

La proprietà del petrolio di sviluppare, quando si riscalda, vapori combustibili, che mescolati all'aria esplodono, è designata col nome di *infiammabilità* o di *esplosività*, ed il grado di temperatura al quale questi vapori si sviluppano in quantità tale da prender fuoco, si chiama *punto d'infiammabilità*.

Il petrolio per illuminazione non può esser venduto se abbia un punto di infiammabilità inferiore a 22,8°C. per l'Inghilterra, a 21° per l'Italia, la Germania e l'Austria-Ungheria, a 28° per la Russia ed a 35° per la Francia.

Molti sono gli apparecchi, costruiti per la determinazione di cotesto punto di infiammabilità del petrolio: mi limiterò alla descrizione di quello di Abel che è stato adottato quasi generalmente.

Esso è costituito di un ampio bagno cilindrico ad acqua *CC* (fig. 268), che col suo orlo superiore sporgente poggia su di un recipiente d'ottone *DD* più largo, sostenuto, a sua volta, da un trepiedi metallico. Tra la parete del bagno e quella del recipiente che lo contiene vi è uno spazio di un centimetro, che, essendo pieno d'aria, forma un involuero coibente e serve a mantenere costante la temperatura del bagno. Il coperchio del bagno porta un imbuto *f*, un tubo d'efflusso ed ha anche un foro entro cui si introduce un termometro *e*, che deve segnare la temperatura del bagno. *A* è il recipiente cilindrico che deve contenere il petrolio; esso è alto 58 mm., largo 51 mm., ed è munito di un bordo anulare saldato a 9 o 10 mm. al di sotto della sua parte superiore.

Nell'interno di questo vaso è fissata una punta di ferro *a*, che, diretta obliquamente in alto, serve da segno e si trova ad una distanza dal fondo di 38 mm. Il recipiente è chiuso ermeticamente con un coperchio che porta il termometro *b* che pesca nel petrolio ed uno speciale congegno per l'accensione. Questo consta di una molla che si carica girando un bottone e che,

premendo un tasto, scatta, mettendo in movimento una laminetta metallica orizzontale. Questa laminetta, quando è in riposo, chiude un'apertura quadrata praticata nel coperchio; ma, nell'istante che si scarica la molla, essa laminetta, che ha pure una finestra, strisciando sul coperchio, apre il recipiente in cui si trova il petrolio e lo richiude immediatamente. Nell'istante

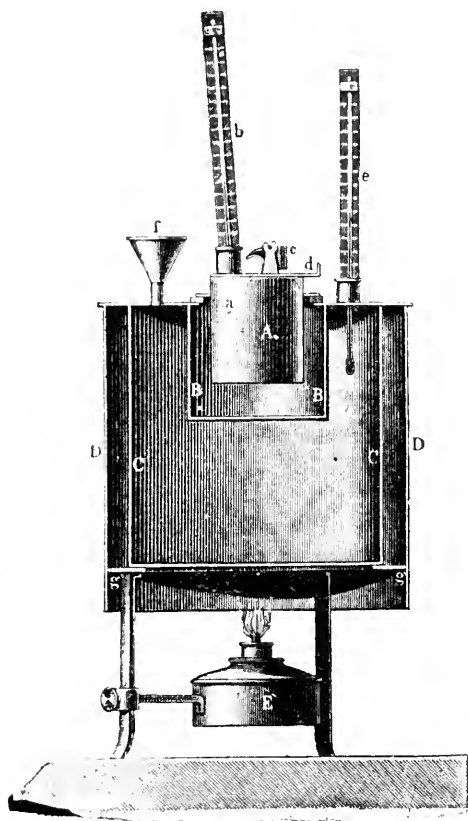


fig. 268.

che la finestra è aperta, l'accensore *c*, che è una fiammella alimentata da un truogolino pieno di olio o di petrolio, mosso da un eccentrico, si inclina verso l'apertura per rialzarsi immediatamente.

La determinazione si eseguisce nel modo seguente:

L'apparecchio si pone in una camera che abbia una temperatura media e su di un tavolo il cui piano sia perfettamente orizzontale. Si fa scaldare a parte una certa quantità d'acqua fino a  $58^{\circ}$  C. e, per mezzo dell'imbuto, si introduce nel bagnomaria fino a riempirlo; ciò che è raggiunto quando l'acqua comincia ad uscire per il tubo di deflusso. Durante l'esperimento,

L'acqua deve esser mantenuta alla temperatura precisa di 55° e, nel caso che tenda ad abbassarsi, si riporta all'altezza primitiva, accendendo la lampada a spirito *E*. Frattanto, si raffredda il petrolio al disotto di 12°, immergendo il recipiente, che lo contiene, in acqua raffreddata con ghiaccio, e con una pipetta si versa cautamente in *A* fino a sfiorare la punta metallica *a*. Il recipiente si mette nel bagno, evitando ogni scossa, che possa far bagnare la parete al di sopra della punta metallica, si chiude col coperchio e si legge la pressione barometrica. Questa indicherà la temperatura alla quale debesi cominciare la prova dell'accensione dei vapori di petrolio, come indica la seguente tabella:

TAB 78

Con una pressione barometrica	Temperatura alla quale deve cominciare la prova dell'accensione
da 685 a 695	+ 14.0
696 » 705	» 14.5
» 706 » 715	» 15.0
» 716 » 725	» 15.5
» 726 » 735	» 16.0
» 736 » 745	» 16.0
» 746 » 755	» 16.5
» 756 » 765	» 17.0
» 766 » 775	» 17.0

Se, per es., la pressione fosse 756, la prima prova deve esser fatta a 17°; cioè, quando la temperatura del petrolio è arrivata a 17° si accende l'accensore con una fiammella tanto grande quanto una perlina d'avorio che, come campione, si trova nel coperchio, e si fa scattare la molla.

La laminetta scorrevole apre la finestra del coperchio: i vapori di petrolio escono liberamente e, venendo a contatto della fiammella si infiammano. Si ripete la prova ad ogni mezzo grado di elevazione della temperatura del petrolio, fino a che si abbiano vapori che si infiammano con una piccola esplosione. La temperatura alla quale avviene questo, letta sul termometro *b* dà il punto cercato di *infiammabilità* del petrolio.

Durante la prova, si deve evitare qualsiasi corrente d'aria in vicinanza della fiammella: e perciò con una lastra di vetro, portata dalla cassetta dello strumento, si protegge la fiammella anche dai movimenti dell'aria prodotti dalla respirazione dell'osservatore.

Il punto di infiammabilità è in dipendenza della pressione barometrica, ed esso sarà rispondente alle prescrizioni, quando la pressione sia di 760 mm. La tabella seguente dà i valori limiti del punto di infiammabilità tollerati, in corrispondenza alle diverse pressioni che si possono avere facendo le determinazioni: corregge, cioè, il punto di infiammabilità limite 21° per una pressione diversa da quella di 760.

TAB. 79.

Pressione in mm.	Il punto d'in- fiammabilità non deve es- sere al di- sotto di:	Pressione in mm.	Il punto d'in- fiammabilità non deve es- sere al di- sotto di:	Pressione in mm.	Il punto d'in- fiammabilità non deve es- sere al di- sotto di:
685	18.4°	720	19.6°	755	20.8°
690	18.6	725	19.8	760	21.0
695	18.7	730	20.0	765	21.2
700	18.9	735	20.1	770	21.4
705	19.1	740	20.3	775	21.5
710	19.3	745	20.5	780	21.7
715	19.4	750	20.7	785	21.9

### Gas per illuminazione.

Col nome di gas per illuminazione si indicava poco fa il prodotto gassoso che si ottiene per distillazione secca del carbon fossile. Oggi però questo nome deve essere esteso ad altri gas infiammabili che già occupano od occuperanno un posto interessante nella illuminazione delle città e delle abitazioni, nonchè, come forza motrice, nelle industrie. Questi sono: *gas acetilene* e *gas all'acqua*.

### Gas carbone.

Questo gas si prepara, caricando grandi storte di terra refrattaria con 110 o 150 kg. di carbon fossile e riscaldando ad una temperatura tra 800° e 1300°, che è l'ottima per avere una buona resa ed un gas con un potere illuminante eccellente.

I prodotti che distillano sono molto diversi ed alcuni di essi devono essere eliminati perchè inutili o perchè danneggiano la chiarezza della luce. La tabella seguente dà in riassunto i prodotti che si ottengono nella distillazione del carbon fossile:

TAB. 80.

Gas	Catrame
<p><i>Sostanze illuminanti.</i></p> <p>Benzene, toluene ed altri idrocarburi aromatici</p> <p>Carburi <math>C_n H_{2n}</math> e <math>C_n H_{2n-2}</math>: etilene, propilene e tracce di naftalina</p> <p><i>Sostanze non illuminanti.</i></p> <p>Metano, idrogeno, ossido di carbonio</p> <p><i>Sostanze nocive o inutili.</i></p> <p>Acido carbonico, idrogeno solforato, ammoniaca, solfuro di carbonio, cianogeno, azoto, ossigeno</p>	<p><i>Sostanze neutre.</i></p> <p>Naftalina, paraffina, crisene, benzina, toluene, cumene, ecc. antracene</p> <p><i>Sostanze acide.</i></p> <p>Fenolo, acido rosolico</p> <p><i>Sostanze basiche.</i></p> <p>Anilina, piridina, acridina.</p>
<p><i>Acqua ammoniacale.</i></p> <p>Carbonato, solfidrato, solfocianuro, cianuro d'ammonio</p>	<p><i>Coke.</i></p> <p>Carbone e sostanze minerali</p>

La depurazione del gas è contemporaneamente fisica e chimica.

DEPURAZIONE FISICA. — I vapori ed i gas che escono dalla storta entrano in un grande tubo *B* (fig. 269) ove subiscono una prima refrigerazione.

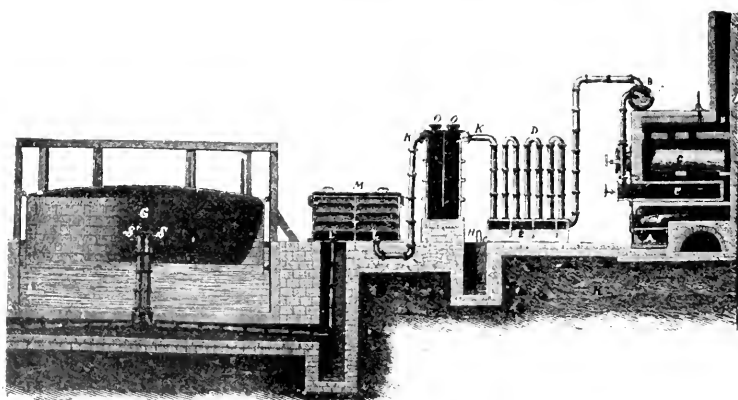


fig. 269.

zione, per la quale abbandonano una parte delle sostanze catramose; poi passano in un sistema di tubi verticali *D* ove subiscono una ulteriore refrigerazione, per la quale abbandonano sostanze catramose ancora ed acqua

ammoniacale che si raccolgono nel pozzetto *O*. A questo punto una pompa, che piglia il nome di *esauritore*, aspira il gas dalle storte e lo spinge in una colonna *oo* ripiena di coke e bagnato continuamente da getti sottilissimi di acqua ove si separano ancora sostanze catramose ed ammoniaca che si scioglie nell'acqua.

DEPURAZIONE CHIMICA. -- Il gas, che esce dalla grande colonna a coke, contiene ancora ammoniaca, acido carbonico, solfidrato d'ammonio, idrogeno solforato, che non solo diminuiscono il potere luminoso del gas, ma infettano l'aria, ove bruciano, con prodotti fortemente acidi. Queste sostanze si eliminano, per via chimica, costringendo il gas a passare in casse di epurazione *M*, contenenti alcune ossido di calcio, mescolato con segatura di legno, per rendere la miscela porosa; altre ossido ferrico e segatura di legno; altre ancora ossido di ferro, solfato ferroso e segatura.

Nelle prime casse si elimina l'acido carbonico e l'acido cianidrico, formando colla calce carbonato e cianuro; nelle seconde si elimina idrogeno solforato libero e combinato all'ammoniaca, fissandosi sull'ossido di ferro in forma di solfuro; nelle terze si elimina l'ammoniaca che si appropria l'acido solforico del solfato ferroso, trasformandosi in solfato d'ammonio, e mettendo in libertà ossido di ferro. Da queste casse di epurazione il gas è spinto pel tubo *L* nel gazometro *G*, ove si conserva per le richieste.

Per un'intensità luminosa di 100 candele, in un *becco rigeneratore*, si consumano gr. 350 di gas illuminante per ora, con una produzione di 1500 calorie e con una spesa di L. 0,125; in un becco ad incandescenza *Auer* si consumano gr. 400 di gas, con una produzione di kg. 0,64 d'acqua, di kg. 0,069 di acido carbonico e di 3700 calorie, con una spesa di L. 0,135; in un becco *Argand* si consumano gr. 800 di gas con una produzione di kg. 0,694 di acqua, di kg. 0,882 di acido carbonico e di 12000 calorie, con una spesa di L. 0,185.

Il gas dà una luce poco chiara ed oscillante con i becchi a ventaglio od a farfalla; invece col becco Argand e colla lampada rigeneratrice dà fiamma chiara e fissa. La lampada ad incandescenza Auer dà luce chiara, fiamma fissa e consuma poco gas; però la reticella ha il difetto di essere molto fragile. Perciò i becchi a ventaglio od a farfalla devono essere esclusi nella illuminazione delle abitazioni.

Siccome il gas non bene depurato dà luce poco chiara e prodotti di combustione che corrompono l'aria: sarà necessario di esaminare di tanto in tanto la purezza del gas fornito ai Comuni od ai privati. Questo esame comprende: *la ricerca dei prodotti solforati, dell'acido carbonico e dell'ammoniaca*. Inoltre comprende la determinazione della intensità luminosa, di cui parleremo in fine di questo capitolo.

**PRODOTTI SOLFORATI.** — Lo zolfo nel gas illuminante si trova sotto forma di solfuro di carbonio, di idrogeno solforato e di combinazioni solforate organiche non ancora ben caratterizzate.

Il **SOLFURO DI CARBONIO** si ricerca, facendo passare un volume piuttosto grande di gas attraverso una soluzione eterca di triftilfosfina: in presenza di solfuro di carbonio, questa soluzione si colora in rosa e lascia, dopo evaporazione lenta, cristalli di un rosso rubino.

Oppure, secondo Vogel, il gas si fa passare attraverso una soluzione alcoolica di potassa; si fa evaporare l'alcool, si acidifica leggermente con acido acetico e si aggiunge una soluzione diluita di solfato di rame. Si avrà precipitato giallo di xantogenato di rame, se nel gas vi era solfuro di carbonio.

L'**IDROGENO SOLFORATO** si ricerca esponendo ad un getto di gas una carta inumidita di soluzione di acetato di piombo, oppure una carta inumidita con una soluzione, leggermente ammoniacale, di nitroprussiato di soda. In presenza di idrogeno solforato, si avrà annerimento della carta bagnata con soluzione di acetato di piombo e colorazione rosso-violacea colla carta al nitroprussiato.

L'**ACIDO CARBONICO** si ricerca qualitativamente facendo passare il gas attraverso una soluzione ammoniacale di cloruro di calcio. Si formerà carbonato di calcio insolubile nell'acqua in presenza di acido carbonico. Qualora si voglia determinare quantitativamente si adopererà il metodo di Pottenkofer, descritto nel capitolo *Aria*.

**AMMONIACA.** — In una provetta a piede di 25 cm. di altezza e di 2 cm. di diametro si versano 10 cme. di acido solforico  $N_{20}$  e, attraverso a questa soluzione acida, si fa passare il gas illuminante, misurato in apposito contatore. Generalmente, sono sufficienti 100 litri di gas colla velocità di 15 litri all'ora: dopo ciò, si scalda il liquido, per eliminare l'acido carbonico, e si titola l'acidità residua con potassa  $N_{20}$  servendo da indicatore la fenolftaleina. Dal numero di cme. di acido neutralizzato si calcola l'ammoniaca in 100 litri, sapendo che ad ogni cme. di acido  $N_{20}$  ne corrispondono gr. 0,60085. Nel gas di Berlino raramente l'ammoniaca oltrepassa la quantità di 0,5 in 100 litri. Un gas illuminante si riterrà puro quando delle sostanze sopra nominate non ne contenga affatto, oppure ne contenga una quantità piccolissima.

### Acetilene.

L'acetilene ha acquistato importanza nella illuminazione pubblica e privata, dopo la scoperta di Moissan-Bullier del carburo di calcio e della sua proprietà di dare acetilene puro per solo trattamento con acqua (1894). Il carburo di calcio si prepara riscaldando un miscuglio intimo di 120 gr. di calce di marmo e 70 gr. di carbone per 15 minuti in un forno elettrico con una corrente di



350 ampère e 70 volts. Si ottiene, in queste condizioni, un carburo o acetiluro della formola  $C^2Ca$  formatosi per la reazione seguente:



Questo carburo a contatto coll'acqua, si decompone in acetilene ed ossido di calcio, che poi si trasforma in calce idrata,



e se la calce usata per la preparazione del carburo era pura si ottiene acetilene puro, se impura per solfati, fosfati ecc., si ottiene acetilene mescolato a piccole quantità di idrogeno solforato, fosforato, ecc. Perciò l'acetilene che si sviluppa dai generatori deve essere depurato dall'ammonica, idrogeno solforato ed idrogeno fosforato, i quali, bruciando, danno vapori acidi e fumi. Per tale scopo, il gas si fa prima gorgogliare nell'acqua per eliminare le sostanze solubili, poi si fa passare in una colonna piena di pomice imbevuta di una soluzione di solfato di rame, il quale arresta gli arseniuri, i fosfuri ed i solfuri di idrogeno, e finalmente attraverso un'altra colonna piena di carburo di calcio, per togliere la umidità. Da questo dispositivo esce il gas puro e secco e brucia senza spandere alcun odore sgradevole: oltre a ciò il forte odore agliaceo del gas è molto attenuato, poichè, secondo Moissan, esso è dovuto alle impurità, che lo accompagnano. Allo stato puro, difatti, l'acetilene ha un odore etereo piuttosto gradevole.

L'acetilene, bruciato in qualsiasi becco, dà fiamma chiarissima e un po' fuligginosa: bruciato però in becco Auer od in presenza di molta aria dà luce chiarissima, fissa e fiamma non più fuliginosa. Bruciato in un becco ordinario se ne consumano litri 7,5 per Carcel-ora; in un becco a incandescenza se ne consumano litri 3. Per un'intensità di 100 candele si producono kg. 0,103 di acqua e kg. 0,283 di acido carbonico e relativamente agli altri combustibili per illuminazione, si produce una minor quantità di calore.

I pericoli di esplosione con il gas acetilene non sono maggiori di quelli che si incontrano col gas di carbone o col petrolio: possono essere ridotti al minimo quando siasi acquistata una pratica sufficiente dei piccoli gazometri e lampade e soprattutto se si abbia l'avvertenza di accendere il gas quando sia stata scacciata tutta l'aria, che può essere contenuta nell'apparecchio sviluppatore e nella tubulatura.

**Gas all'acqua.**

La preparazione del gas all'acqua riposa sull'azione reciproca del vapor d'acqua sul carbone rovente e del carbone rovente sull'acqua, per cui si forma un miscuglio di idrogeno, di ossido di carbonio e di piccola quantità di acido carbonico.



Il gas all'acqua, fino ad ora, non ha potuto lottare in Europa col gas carbone, mentre in America si usa in molte città in concorrenza con esso. Una delle grandi difficoltà incontrate dal gas all'acqua è stato il pericolo, che esso presenta per la grande quantità di ossido di carbonio che contiene, ossia per la sua grande tossicità. Un'altra difficoltà è che esso non ha odore; perciò le fughe non sono affatto avvertite. A questa difficoltà oggi si è riparato, rendendo il gas fortemente odorante, facendolo passare attraverso la *carbiammina*, o meglio attraverso la *carbitalina*, un idrocarburo di odore disgustosissimo, ricavato dalla compressione del gas olio con una piccola percentuale di naftalina e che non è trattato dal terreno, attraverso il quale possa passare il gas.

Il gas all'acqua ha la composizione seguente:

	Gas non depurato	Gas depurato
Idrogeno . . . . .	49,20	49,50
Ossido di carbonio . . . . .	42,30	41,20
Acido carbonico . . . . .	3,20	4,00
Azoto . . . . .	4,80	5,30
Idrogeno solforato . . . . .	0,50	—
Idrogeno seleniato . . . . .	traccie	—

Per la produzione di 1 metro cubo di gas è necessario 1 kg. circa di carbone, oppure kg. 1,2 di coke.

Il gas così ottenuto non è adatto per l'illuminazione, ma per riscaldamento: perchè dà fiamma poco luminosa e molto calorifera. Però carburando il gas a freddo od a caldo o bruciandolo in lampade ad incandescenza, serve ottimamente anche per illuminazione. In queste condizioni, si ha una fiamma bianca, brillante, senza fumi e fissa. Per una intensità luminosa di 100 candele si ha un consumo di gas di mc. 1,7, con una produzione di acido carbonico di mc. 0,660 e con una produzione di calore di 4250 calorie.

**Luce elettrica.**

La luce elettrica si può avere da lampade ad arco e da lampade ad incandescenza. Le lampade ad arco hanno una intensità luminosa variabile da 250 a 3000 candele normali; le lampade ad

incandescenza da 5 a 32 candele. Con ambedue queste lampade si ha una luce chiara e fissa, pochissima produzione di calore, pochissima quantità di acido carbonico nelle lampade ad arco, nessuna quantità nelle lampade ad incandescenza.

I pericoli d'incendi sono ridotti al minimo; poichè sono possibili solo nel caso che si abbia contatto tra due fili percorsi da corrente contraria. Il costo della luce elettrica relativamente è minore di tutti gli altri mezzi illuminanti fino ad ora esaminati.

### Giudizio igienico.

Nel riguardo igienico ed economico, la luce elettrica è preferibile a tutte le luci provenienti da altre sostanze combustibili, anzi si può dire che sia la luce ideale. Seguono poi l'acetilene, il gas all'acqua, il gas carbone, il petrolio e le candele steariche e di paraffina. L'acetilene, il gas all'acqua ed il gas carbone hanno la cattiva proprietà di essere tossici; il primo per l'acetilene, il secondo per la grande quantità di ossido di carbonio, il terzo per l'acetilene e per l'ossido di carbonio contemporaneamente. Perciò questi gas possono sempre essere causa di gravi disgrazie, qualora non si trattino colle dovute cautele.

### Fotometria.

Si designa col nome di *fotometria* quella parte dell'ottica che compara le intensità delle diverse sorgenti luminose e si chiamano *fotometri* gli apparecchi che permettono di stabilire questa comparazione.

L'intensità di una luce è la proprietà che questa ha d'illuminare più o meno fortemente gli oggetti che investe o sui quali cade.

La fotometria perciò ha importanza economica ed igienica; perchè permette di conoscere il rapporto tra l'intensità luminosa e la spesa che si incontra per l'uso di varie sorgenti luminose artificiali e contemporaneamente ci permette di conoscere le variazioni d'intensità che presenta la luce solare allorchè, in condizioni diversissime, penetra nelle nostre abitazioni.

Allorchè si debba misurare l'intensità relativa di luci artificiali (il problema fotometrico ordinario) non è necessario di uscire dal dominio della fisica, come avviene nella misura della intensità della luce emanata dagli astri; basterà applicare il principio seguente di cui l'esperienza ha mostrato la esattezza.

*L'intensità della luce, ricevuta normalmente su di una data superficie, è in ragione inversa del quadrato della distanza della sorgente luminosa.* Ciò che vuol dire che se una stessa superficie si allontana da una sorgente luminosa di distanze successive rappresentate da 1, 2, 3, 4, ecc., la quantità di luce che essa riceverà successivamente, sarà rappresentata da  $\frac{1}{1}$ ,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{9}$ ,  $\frac{1}{16}$ , ecc. Se, cioè,

si suppone che la superficie in questione sia posta prima ad 1 metro di distanza da una candela e poi a 2 metri, essa riceverà, nel secondo caso, una quantità di luce quattro volte minore che nel primo.

Per ristabilire l'illuminazione primitiva, alla distanza di 2 metri, sarà necessario sostituire la candela unica con un sistema di quattro candele, aventi ciascuna la stessa intensità della prima.

Tutti i metodi, impiegati per ottenere la misura comparata delle intensità luminose, sono fondati su di una proposizione che deriva dal principio precedente e che può essere così enunciata: *Se due sorgenti luminose, situate a due distanze  $D$  e  $D_1$  da una stessa superficie, rischiarano questa egualmente, le intensità rispettive  $I$  ed  $I^1$  di queste due sorgenti sono proporzionali ai quadrati delle distanze  $D$  e  $D_1$ .* Difatti  $I$ , rappresentando la quantità di luce che la superficie riceve dalla prima sorgente posta all'unità di distanza,  $\frac{I}{D^2}$  rappresenta quella che riceve alla distanza  $D$ .

Nell'istesso modo,  $I^1$ , rappresentando la quantità di luce che la superficie riceve dalla seconda sorgente all'unità di distanza  $\frac{I^1}{D_1^2}$  rappresenta quella che riceve alla distanza  $D^1$ . E poichè, per ipotesi, queste due quantità sono eguali, si ha  $\frac{I}{D^2} = \frac{I^1}{D_1^2}$ , donde il rapporto  $\frac{I}{I^1} = \frac{D^2}{D_1^2}$ .

Così, il rapporto che esiste tra le intensità luminose di due sorgenti è esattamente lo stesso di quello tra i quadrati delle distanze, alle quali queste due sorgenti si trovano da una stessa superficie sulla quale producono lo stesso grado di illuminazione. Se ora si pigli, come unità di luce il potere illuminante di una delle sorgenti, p. es.,  $I$ , il potere illuminante dell'altra sarà espresso in tali unità; poichè

$$I^1 = I \frac{D^2}{D_1^2}.$$

Il principio enunciato rappresenta il punto di partenza teorico che ha guidato la costruzione dei fotometri, dei quali molti sono in uso ed egualmente buoni. In questo capitolo ci occuperemo solo del fotometro di Weber, che è uno dei più perfetti fino ad ora conosciuti.

Prima però di passare alla descrizione di cotesto fotometro è necessario dire qualche cosa della unità di luce; poichè è dalla scelta di essa che dipende la possibilità di misurare tutte le sorgenti luminose, qualunque intensità abbiano, ed il facile confronto ed apprezzamento dei risultati delle misure. Disgraziatamente, i tecnici non si sono ancora accordati su questo punto e quasi ogni nazione ha e conserva ancora attualmente l'unità di luce da lei scelta e prescritta.

### Candela normale di Monaco.

La candela normale di Monaco è di stearina, contenente 76 a 76,5 % di carbonio; ha un'altezza di fiamma di 50 mm. e consuma 10,2 a 10,6 gr. di stearina all'ora in aria calma.

### Candela normale tedesca.

La candela normale tedesca è di paraffina pura, fusibile a 55°. Ha un diametro di 20 mm. ed uno stoppino formato di 24 fili di cotone insieme attortigliati. Essa, nell'aria tranquilla, alla temperatura di 16° e con una fiamma di 50 mm., brucia 7 gr. di paraffina all'ora.

### Candela normale inglese.

La candela normale inglese è formata di spermaceti purissimo, mescolato con una piccola quantità di cera: la sua fiamma ha un'altezza di 45 mm. e consuma gr. 8,26 di spermaceti all'ora.

### Lampada Hefner.

Secondo Siemens e Halske, si fa ardere l'acetato di amile ( $C^7 H^{14} O^2$ ) in una lampada con regolatore e con uno stoppino massiccio di 8 mm. di diametro e lungo 25 cm. Mediante un adatto traguardo o mirino, sostenuto da un'asticina metallica, si regola l'altezza della fiamma in modo che raggiunga la lunghezza esatta di 40 mm., contata dall'orlo del cannello da cui sporge lo stoppino. Il consumo orario di questa lampada è circa 9,6 gr.: e la luce che essa dà è eguale a quella della candela normale inglese.

### Lampada Carcel.

La lampada Carcel si usa, come unità di luce, in Francia ed in Italia: essa ha un lucignolo di forma anulare ed è alimentata con olio di colza depurato o con olio di oliva. Per mezzo di una pompa, mossa da un meccanismo di orologeria, nascosto nel corpo della lampada, l'olio è continuamente spinto nello stoppino in quantità superiore a quella che si consuma: la fiamma è protetta da un tubo di vetro. La fiamma deve avere un diametro di 23,5 mm., un'altezza di 40 mm. e deve bruciare 42 gr. di olio all'ora. L'esperienza ha mostrato che, in queste condizioni, si ottiene una sorgente luminosa che si può ritenere costante.

### Unità di luce Violle.

Come si vede, tutte coteste unità di luce sono puramente convenzionali ed empiriche: per la qual cosa, nella Conferenza internazionale degli elettricisti, radunatasi a Parigi nel 1884, si adottò la proposta Violle, secondo la quale « l'unità di luce bianca è la quantità di luce emessa in direzione normale da un centimetro quadrato della superficie di una massa di platino fuso alla temperatura di solidificazione ».

Inoltre, nel congresso internazionale degli elettricisti del 1889 è stato deciso di adottare una unità di luce secondaria, la *decimale*, che è la ventesima parte della unità di Violle o circa la decima parte del becco Carcel.

La luce normale di Violle non è di impiego facile nella pratica e non si può utilizzare nelle ricerche ordinarie: si usano invece delle luci normali secondarie, aventi con quella di Violle un rapporto conosciuto. Le luci di

cui si fa uso sono quelle che hanno servito di già, cioè la lampada Carcel, le candele, ecc.

Per potere utilizzare queste unità di luce, alle quali si dà il nome di *secondarie*, e per trasformarle in unità normali e comparare i risultati diversi, si ricorrerà alla seguente tabella:

TAB. 81.

	Violle	Carcel	C. inglese	C. tedesca	L. Hefner
Luce normale Violle . . . . .	1	2.08	18.5	16.4	20.0
Carcel . . . . .	0.481	1	8.94	7.89	10.0
Candela inglese . . . . .	0.054	0.112	1	0.886	1.119
Candela tedesca . . . . .	0.061	0.127	1.13	1	1.224
Lampada Hefner . . . . .	0.050	0.100	0.893	0.817	1

### Fotometro di Weber.

Il fotometro di Weber, nel suo aspetto esteriore, è rappresentato dalla fig. 270, ove la cassetta, che serve a contenerlo, porta avvitata una colonna

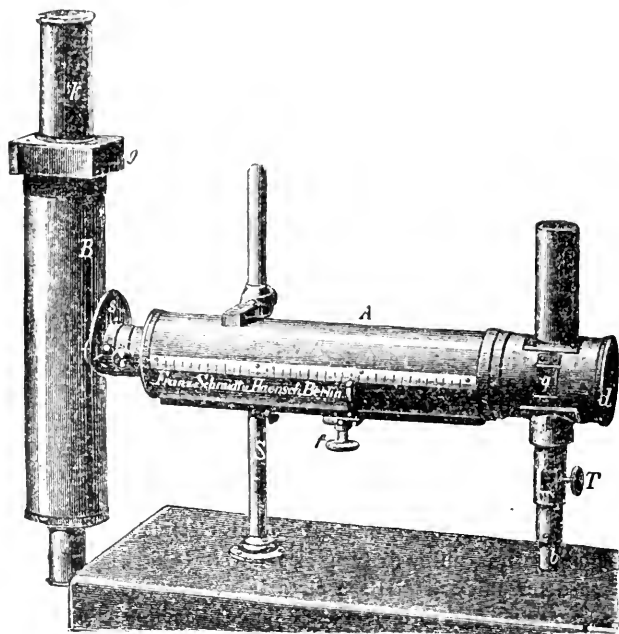


fig. 270.

metallica *S* destinata a sostenere il tubo *A*. Questo tubo porta a destra una cameretta per la sorgente luminosa di confronto, a sinistra un tubo *B* girevole attorno ad *A* come asse.

La disposizione interna del fotometro è rappresentata dalla fig. 271 ove si vede che la cameretta, per la sorgente luminosa di confronto, è chiusa, a sinistra, con una lastra di vetro trasparente, a destra, con un coperchio metallico *e*, nella parte anteriore, ha una finestra chiusa con una lamina di mica, protetta da un coperchio metallico. Per questa finestra, si può osservare la fiamma e regolarne l'altezza, che deve essere di 20 mm. precisi. Perciò, dietro la fiamma è posto un piccolo specchio, limitato, lateralmente, da due scale millimetriche, il quale permette di evitare l'errore di parallasse nella puntata dell'occhio sulle due estremità della fiamma. Cioè, si

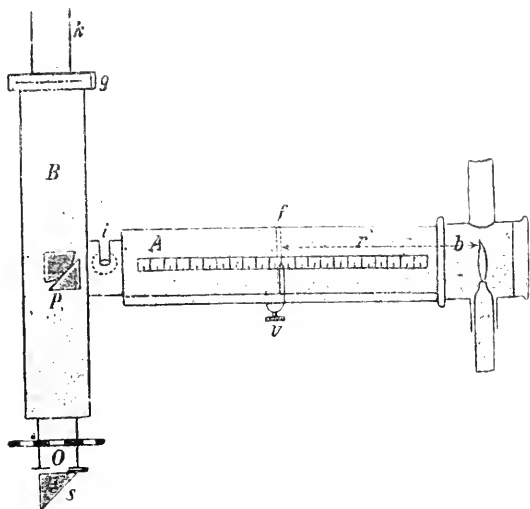


fig. 271.

dispone prima l'occhio in modo che la cima dello stoppino si copra colla sua immagine nello specchio e si fa la lettura sulla scala; poi, nel modo identico, si fa la lettura della punta della fiamma, si fa la differenza tra le due letture e questa indica l'altezza della fiamma. Nel caso che questa non sia 20 mm. precisi, si corregge, girando in un senso o nell'altro la porzione della lampada sporgente sotto la cameretta, allungando o limitando lo stoppino.

Nel tubo *A* si trova, perpendicolare all'asse, una lastra rotonda *f* di vetro luttato, che può muoversi, avanti e indietro, mediante un bottone *v*, ingranato in una cremagliera. La distanza della lastra dalla fiamma si legge sulla scala esterna che si trova incisa sul tubo *A* e si esprime sempre in *centimetri*.

Il tubo girevole *B* si pone di fronte alla sorgente luminosa che si deve esaminare: la parte di questo tubo, rivolto alla luce, porta una cassetta *g*,

entro cui, secondo il bisogno, si possono introdurre diverse lastre quadrate di vetro lattato, contrassegnate con numeri speciali.

Il prolungamento *k* non è altro che un tubo internamente annerito, che ha per ufficio di impedire il passaggio della luce laterale attraverso le lastre. La parte opposta di questo tubo porta un oculare *O* coperto da un prisma a riflessione totale, il quale permette di fare l'osservazione, senza applicare l'occhio all'oculare, ma guardando dall'alto al basso. Poco discosto dall'apertura oculare vi ha una lastrina scorrevole con tre fori, dei quali uno libero, uno munito di vetrino rosso, l'altro munito di vetrino verde.

Nell'interno del tubo *B* e precisamente nel punto d'incrocio del tubo mobile col fisso, vi è una combinazione di prisma *P*, detta di Lummer-Brodhun, ingrandita nella fig. 272, la quale combinazione consiste di due

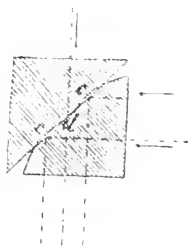


fig. 272.



fig. 273.

prismi, uno *cc* a riflessione totale, l'altro ad angolo retto, però colla ipotenusa *d* non totalmente piana, ma in parte sferica ed arrotata. I due prismi combaciano per la parte piana, in modo che la luce che viene dalla fiamma campione traversa liberamente i prismi nel punto ove combaciano, si riflette invece attorno al punto di combaciamento entra nell'oculare e dà il contorno luminoso di una superficie circolare fig. 273 mentre la luce, che si deve misurare, traversa i due prismi solo nella parte combaciante ed entra pure nell'oculare, illuminando la parte centrale di detta superficie. Cosicchè nell'oculare il campo visivo si mostrerà diviso in due parti nettamente distinguibili, perchè, in generale, illuminate con varia intensità, una centrale, l'altra periferica, ambedue poste nella stessa superficie circolare piana.

La determinazione dell'intensità luminosa di una fiamma o di una sorgente qualsiasi, si eseguisce nel modo seguente:

Il tubo girevole *B* si drizza verso la sorgente luminosa in modo che essa apparisca nel centro del campo visivo; poi si introduce nella cassetta *g* una o più lastre di vetro lattato, a seconda della intensità della sorgente luminosa da misurare, si accende la lampadina a benzina, si regola la fiamma, nel modo detto, e manovrando il bottone (fig. 271) si fa in modo che la parte periferica della superficie circolare sia egualmente illuminata della parte centrale. Si legge nel tubo *A* il numero di centimetri *d* indicanti la distanza



della fiamma campione dalla lastra opaca  $f$ , si misura la distanza  $D$  della sorgente in esame dalla lastra opaca  $g$  e si avrà l'intensità luminosa calcolandola dalla formola seguente:

$$I = C \frac{D^2}{d^2} \text{ candele Hefner}$$

ove  $I$  indica l'intensità cercata,  $D$  e  $d$  indicano le distanze misurate,  $C$  è una costante determinata per ogni strumento ed è variabile per le diverse combinazioni di lastre opache da introdursi nella scatola  $g$  (1).

*Esempio.* — Nella scatola  $g$  si trovi la lastra lattata 3; la fiamma in esame si trovi alla distanza di 100 cm.; la lastra lattata  $f$  si trovi dalla fiamma campione distante cm. 25,5. Per il fotometro usato la costante  $C_3$  è 0,33. L'intensità della fiamma sarà:

$$I = \frac{100 \times 100}{25,5 \times 25,5} \times 0,33 = 5,07 \text{ candele Hefner.}$$

*Esempio.* — Nella scatola  $g$  si trovino le lastre 3 + 4;  $C_4 = 0,67$ . Sia  $D = 110$  cm.;  $d = 21,4$ . L'intensità sarà:

$$I = \frac{110 \times 110}{21,4 \times 21,4} \times 0,67 = 17,70 \text{ candele Hefner}$$

Nel caso che tra la luce in esame e quella della fiamma campione ci sia differenza di colorito, per cui riesca difficile ottenere la loro comparazione, si fa uso della lastrina oculare prima con vetro rosso poi con vetro verde in modo che all'occhio arrivino solo i raggi rossi o verdi delle due fiamme.

Si determina l'intensità luminosa per due raggi colorati, e si calcola l'intensità colla formola seguente:

$$I = k R$$

ove  $I$  è l'intensità cercata;  $k$  il valore che si legge nell'apposita tabella e corrispondente al rapporto  $\frac{\text{Verde}}{\text{Rosso}}$ ;  $R$  il valore trovato, in candele Hefner, per la luce rossa.

*Esempio.* — Sia, per il color rosso  $D = 100$  cm.;  $d = 15$  cm.;  $C_2 = 0,33$ : si avrà:

$$I R = 0,33 \frac{100 \times 100}{15,0 \times 15,0} = 14,7.$$

Sia, per il color verde,  $D = 100$  cm.;  $d = 13,5$  cm.;  $C_3 = 0,33$ : si avrà:

$$I V = 0,33 \frac{100 \times 100}{13,5 \times 13,5} = 18,1$$

Da cui

$$\frac{V}{R} = \frac{18,1}{14,7} = 1,23$$

Nella corrispondente tabella 82, si trova, per il rapporto 1,23, il valore di  $k = 1,17$  e come risultato finale si avrà:

$$I = k R = 1,17 \times 14,7 = 17,2 \text{ candele Hefner.}$$

(1) Ogni fotometro è accompagnato da una tabella colle indicazioni sulle costanti per ogni lastra lattata unita allo strumento.

TABELLA, SECONDO L. WEBER,  
PER LA FOTOMETRIA DI LUCI COLORATE.

TAB. 82.

$\frac{V}{R}$	$k$	$\frac{V}{R}$	$k$	$\frac{V}{R}$	$k$
0.0	—	2.0	1.60	4.0	2.33
0.1	—	2.1	1.65	4.1	2.36
0.2	—	2.2	1.70	4.2	2.39
0.3	0.70	2.3	1.75	4.3	2.41
0.4	0.56	2.4	1.80	4.4	2.44
0.5	0.64	2.5	1.84	4.5	2.47
0.6	0.72	2.6	1.88	4.6	2.49
0.7	0.80	2.7	1.92	4.7	2.52
0.8	0.87	2.8	1.96	4.8	2.55
0.9	0.94	2.9	1.99	4.9	2.57
1.0	1.00	3.0	2.02	5.0	2.60
1.1	1.03	3.1	2.05	5.1	2.62
1.2	1.15	3.2	2.08	5.2	2.64
1.3	1.22	3.3	2.11	5.3	2.67
1.4	1.28	3.4	2.15	5.4	2.69
1.5	1.34	3.5	2.18	5.5	2.71
1.6	1.40	3.6	2.20		
1.7	1.46	3.7	2.24		
1.8	1.50	3.8	2.27		
1.9	1.55	3.9	2.30		



PROF. I. NOSOTTI

---

IGIENE DELLE CARNI E DEL LATTE

---



---

# IGIENE DELLE CARNI E DEL LATTE

## IGIENE DELLE CARNI.

### A) *Carni degli animali da macello.*

#### Macelli.

IMPIANTO. — I macelli privati, che servono contemporaneamente per la mattazione degli animali e per la vendita delle loro carni, offrono dei gravi inconvenienti d'ordine igienico e d'ordine morale.

Ad assicurare pertanto la perfetta ispezione degli animali e delle carni da macello, ed a togliere alla vista del pubblico lo spettacolo delle operazioni di mattazione, si impiantarono i mattatoi o macelli, per la cui costruzione rimandiamo al Vol. II, pag. 468 e seg.

Agli effetti dell'art. 60 della Legge sanitaria e dell'art. 109 del Regolamento generale, ogni comune che abbia una popolazione agglomerata superiore a 6000 abitanti dovrà avere almeno un macello pubblico, sorvegliato dall'Autorità comunale, restando vietato di macellare fuori di esso. Se ciò ovunque non ancora è stato fatto, dobbiamo tuttavia ritenere che moltissimi comuni, si sono provvisti, o si vanno man mano provvedendo, di un pubblico macello, nell'interesse dell'igiene e della salute pubblica. Prima di procedere all'impianto di un mattatoio bisogna conoscere il massimo della macellazione giornaliera di ogni singola specie di bestiame, per adattare i singoli locali a seconda dell'importanza di essa e avendo in mira di sovrabbondare alquanto, sia per l'eventuale aumento della popolazione, sia per il maggiore consumo della carne, che, è desiderabile, si verifichi per il migliore benessere degli abitanti.

**FUNZIONAMENTO.** — Per l'esercizio del mattatoio è necessario di stabilire delle norme regolamentari informate alle vigenti leggi e disposizioni sanitarie, tenendo presente che il mattatoio non si deve ritenere (qual fu ritenuto e si ritiene ancora da molti) come un mezzo qualunque per assicurare un cespite di entrata, (le tasse di mattazione), ma bensì come uno stabilimento di carattere sanitario.

Il regolamento dovrà quindi contenere,

- 1° l'orario di servizio;
- 2° le norme per l'accettazione degli animali;
- 3° i metodi di uccisione;
- 4° i criteri per la visita e bollatura delle carni;
- 5° i modi di trasporto di esse;
- 6° le norme per il sequestro e la distruzione delle carni e dei visceri malsani;
- 7° quelle per la lavorazione e sterilizzazione delle carni;
- 8° tutte quelle altre disposizioni atte a garantire il perfetto funzionamento dello stabilimento (ordine, pulizia, disciplina, ecc.).

1. *Orario di servizio.* — Deve variare a seconda delle abitudini e consuetudini locali: in alcuni siti infatti si usa macellare di buonissima ora, in altri più tardi, dovendo i macellai attendere prima alla vendita delle carni negli spacci. Comunque sia, è indispensabile però che le operazioni di macellazione si facciano alla luce del giorno, per garantire la perfetta visita sanitaria, ed impedire l'inganno o la sottrazione di parti o visceri malati.

Occorre talvolta di dovere macellare d'urgenza, fuori dell'orario stabilito, qualche animale, come nei casi di meteorismo o timpanite, di fratture, ecc. In tal caso il macellaio deve tosto avvertire il Sindaco, e non esportare nessuna parte dell'animale prima della visita del veterinario, il quale, ad impedire abusi, constaterà anche se effettivamente era giustificata la necessità dell'immediata macellazione avvenuta.

2. *Norme per l'accettazione degli animali in vita.* — Fatta eccezione del caso precedente, prima della macellazione tutti gli animali da macello devono essere visitati per constatare lo stato di età, di nutrizione e di salute. Per l'età è stabilito un minimo di 30 giorni per i bovini e suini e di 20 giorni per gli ovini, e per lo stato di nutrizione saranno respinti gli animali troppo vecchi o denutriti. Per la salute saranno esclusi i febricitanti, e sequestrati i sospetti od affetti da malattie contagiose. Noi però, fatta eccezione per quest'ultimi, siamo del parere di ammettere alla macel-

lazione tutti gli animali presentati, e ciò per il fatto che gli animali vecchi e denutriti, od ammalati, una volta respinti, vengono ordinariamente necesi clandestinamente mettendone in commercio od in consumo le carni con evidente pericolo dell'igiene e della salute pubblica, potendo detti animali essere affetti da malattie anche trasmissibili all'uomo, come la tubercolosi, ecc. ecc. Ammettendoli invece alla macellazione, resta sempre riservata la seconda visita sanitaria per giudicare con maggiore cognizione di causa, e, nel caso, sequestrare e distruggere in parte od in tutto l'animale, impedendo così il suindicato inconveniente.

Nell'accettazione degli animali bisogna essere coscienziosi, vigilanti e franchi, dando un giudizio pronto e definitivo, quand'anche qualche volta si avesse a sbagliare. Il tentennare è a danno dell'autorità e del prestigio, ed i macellai se ne approfittano per piantare delle questioni spiacevoli.

3. *Metodi di uccisione.* — Tutti i metodi sono buoni purchè applicati da persone pratiche e capaci. Pei grossi animali usasi lo stiletto, la maschera Bruneau e la mazza di ferro, pei piccoli il dissanguamento mercè il taglio dei vasi del collo. Recentemente è stato proposto un sistema esplodente, ripetizione dell'antico apparecchio a fuoco di Sigismund o pistola, il quale offre quindi l'istesso inconveniente qual'è il pericolo che la palla deviando esca di lato e vada a ferire il garzone che tiene fermo il buco.

4. *Criteri per la visita e bollatura delle carni.* — Ucciso l'animale e terminato di macellarlo, nessuna parte di esso deve essere levata dal posto od esportata, prima della visita del veterinario. Ad assicurare che non vengano sostituiti visceri malati con altri sani, in ispecie i polmoni, è necessario che il veterinario assista almeno all'apertura della cavità toracica. Dato uno sguardo al corpo dell'animale per vedere se vi sono su di esso contusioni, ecchimosi od altre lesioni, nonchè lo stato di nutrizione e d'ingrasso, si passerà ad una minuziosa e diligente visita di tutti i visceri ed organi. Se tutto è stato riscontrato normale, allora si procederà alla bollatura delle carni e dei visceri, se al contrario si trovasse l'animale macellato, in tutto od in parte ammalato, allora si procederà al sequestro totale o parziale a seconda dei casi, ed a norma di quanto è stabilito dalle vigenti leggi e dai regolamenti sanitari.

5. *Modi di trasporto e di conservazione delle carni.* — Le carni ed i visceri visitati e bollati, e perciò ammessi al consumo, si trasporteranno dal mattatoio agli spacci, od ai siti di deposito e conservazione, con carri foderati di zinco, tenuti e mantenuti in

buono stato, e puliti. Anche i panni con cui si usa prosciugare e coprire le carni devono essere di bucato, pulitissimi, per non imprimere cattive qualità alle carni stesse.

La carne che non viene subito smerciata deve essere conservata in locali sani, bene aereati, in conserve o celle frigorifere, tenute con perfetta pulizia, ed accessibili al veterinario; il quale le ispezionerà saltuariamente, sequestrando le carni alteratesi, o quelle eventualmente introdotte di contrabbando.

6. *Norme per il sequestro e la distruzione delle carni e dei visceri malsani.* — Le carni ed i visceri riscontrati in istato patologico, malati, saranno sequestrati, impedendone assolutamente la vendita. Il sequestro deve essere sempre fatto e presenciato dal veterinario, sotto la di cui responsabilità sarà fatto il trasporto al locale della distruzione. Questa sarà fatta coi metodi migliori, per distruggere tutta la virulenza delle carni ed utilizzare, possibilmente, i prodotti della distruzione per uso industriale ed agricolo.

Corrispondono bene a tale scopo gli apparecchi del Rastelli di Torino (fig. 274). Tali apparecchi devono impiantarsi nella parte più

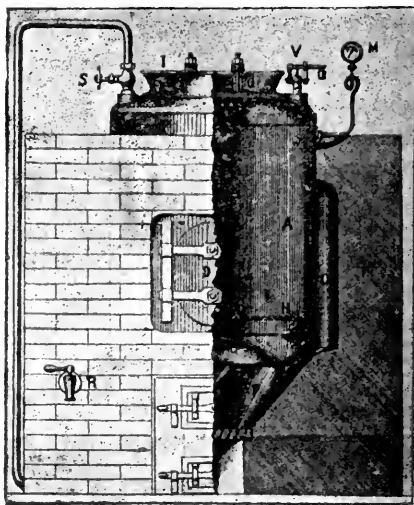


fig. 274. — Apparecchio Rastelli.

recondita del mattatoio, perchè, per quanto perfezionati essi siano danno sempre luogo a qualche emanazione incomoda, se non insalubre, ciò che potrebbe dare nascita a reclami. Si è perciò che taluni sono contrari alla distruzione delle carni nel mattatoio, in un locale ove si preparano carni commestibili; ma però bisogna anche considerare che il trasporto delle parti malate in altre località fuori del mattatoio per esservi distrutte offre il pericolo che vengano trafugate, e nessuna garanzia sulla totale e perfetta distruzione loro.

Nei grandi macelli giova l'apparecchio De Le Croix (fig. 275) per la distruzione delle carni, apparecchio che funziona a Berlino, a Roma, ed in altre grandi città. Con esso si assicura la distruzione di qualsiasi virulenza delle carni, nel mentre si utilizzano i residui rappresentati dalle





distruzione (15 a 25 giorni) costituisce un ottimo e pregiato concime che si smercia ad altissimo prezzo, e paga così quasi totalmente le spese dell'avvenuta distruzione.

7. *Norme per la lavorazione e sterilizzazione delle carni.* — Non tutte le carni sequestrate devono essere distrutte. In alcuni casi ne è permesso l'uso previa lavorazione e cottura. Così nei casi di panicatura leggera dei suini le carni possono cuocersi, ovvero venire lavorate ed insaccate indi esportate, previa bollitura, il grasso fuso facendone dello strutto, ed i lardi dopo tre mesi di salazione si possono adoperare.

Per altre malattie, come per la tubercolosi, ecc., quando il processo non è molto generalizzato, si ricorre alla cottura semplice e prolungata, o meglio a quella a vapore o sterilizzazione delle carni, prima di ammetterle al consumo. Ciò che si fa con vari apparecchi

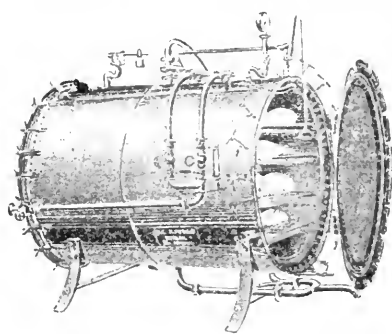


fig. 277. — Sterilizzatore Rohrbach per le carni

di cui il migliore è quello di Rohrbach di Berlino, che costa circa mille marchi sul posto (fig. 277).

Per far funzionare questo apparecchio si procede nel modo seguente: la carne, liberata possibilmente dal grasso, si fa in pezzi di 3 e di 5 kg., e la si dispone nell'apparecchio. Si fa il vuoto, e poi si porta la temperatura a 112° C. alla quale temperatura si sterilizzano le carni

per due ore, e poi si estraggono. La carne è allora perfettamente cotta, tramanda un buon odore ed è assai saporita essendo cotta nei propri succhi. Il brodo è ottimo, sostanzioso, essendo rappresentato dal sugo sprigionatosi dalla carne per effetto della cottura.

Per lo stesso scopo può servire il suindicato apparecchio del Rastelli facendolo funzionare parzialmente, fino cioè alla sterilizzazione per mezzo del vapore, dopo avervi introdotte in pezzi le parti dell'animale più adatte per l'alimentazione; e, in taluni casi, (es. in quelli di actinomicosi o di cancro diffusi), la cottura semplice, in caldaie ben chiuse, e prolungata almeno per 3 ore.

Tutte queste operazioni devono essere solo eseguite nell'interno del mattatoio, e sotto la diretta sorveglianza e responsabilità del veterinario. Esse sono intese a rendere meno dannose le conseguenze del sequestro delle carni, ed a rendere facile, anche ai meno abili, di usufruire della carne, ridotta buona e salubre,

inoffensiva, col processo della sterilizzazione, o della cottura prolungata.

8. *Altre disposizioni (ordine, disciplina, pulizia, ecc.).* — Nel mattatoio le operazioni tutte devono procedere con perfetto ordine, senza di che avranno luogo dei gravissimi inconvenienti, a danno dei servizi in genere e di quello sanitario in specie. L'ordine trascina con sè la disciplina, e quel rispetto reciproco che deve mantenersi fra tutto indistintamente il personale, comunque adetto al mattatoio. Si l'uno che l'altra però non potranno essere mantenute senza un regolamento interno, con disposizioni tassative, chiare, che non diano luogo a dubbi, a contestazioni. In esso saranno contenute le penalità da infliggersi contro coloro che turbano il regolare andamento dei vari servizi inerenti a simili igienici stabilimenti, o contravvengono alle disposizioni igienico-sanitarie contenute nel Regolamento locale d'igiene.

Di tutti i servizi d'ispezione giornaliera, e di quanto di straordinario accada nel mattatoio, il veterinario ne terrà regolare nota su registri; e, nei casi gravi ed urgenti, ne farà un discarico all'ufficiale sanitario o direttamente al Sindaco.

Sia durante le operazioni di mattazione, sia dopo, occorre la più perfetta e continua pulizia dei locali e degli attrezzi per impedire, in specie di estate, emanazioni insalubri ed incommode.

Alla fine d'ogni anno il veterinario del macello dovrà fare una relazione al Sindaco che riassume tutto il servizio prestato, tutta la gestione dell'annata, che tocchi tutti i punti suindicati. Essa dovrà essere corredata da speciali statistiche riflettenti: il bestiame introdotto, quello respinto, quello mattato, gli animali ed i visceri sottratti al consumo, ecc. Importante dal lato igienico sanitario sarà la statistica del consumo carneo avvenuto nell'annata per ogni abitante, facendone risaltare l'aumento o il decremento e le ragioni di ciò. Infine si faranno tutte quelle proposte, debitamente motivate, che si riterranno opportune pel migliore andamento di sì importante servizio igienico-sanitario.

### **Carni improprie all'alimentazione dell'uomo.**

Le carni che generalmente si ritengono improprie all'alimentazione dell'uomo sono le seguenti:

**CARNI MAGRE.** — La magrezza è caratterizzata dalla forte diminuzione del tessuto muscolare ed adiposo, e dal conseguente predominio relativo delle parti ossee; manca quindi il grasso sotto

la pelle, negli interstizii muscolari, nell'epiploon, nel mesenterio; attorno ai reni trovansi ancora un po' di grasso molle e giallastro, ma se l'animale è stato insuffiato, il peritoneo d'inviluppo è sollevato e distaccato dai reni.

Quando la magrezza è congiunta all'idroemia, sul taglio longitudinale delle ossa del rachide e delle ossa lunghe vi ha assenza assoluta di grasso, ed in sua vece una materia giallastra, tremolante, gelatiniforme, che non si rapprende mai neanche col freddo. Al livello del ventre, sopra le coste, alla faccia interna delle spalle esiste un tessuto cellulare lasso, molle, a grandi maglie, giallastro o giallo verdastro. Talvolta sulle carni magre notansi anche ecchimosi, spandimenti sanguigni, ed infiltrazioni sierose giallastre del connettivo sottoentaneo, prodotte dal decubito più o meno prolungato dell'animale cui appartennero, o infine vere piaghe gangrenose ed infiltrazioni purulente.

Le carni magre sono in generale pallide molli, ma non sempre, facilmente s'appiccicano alle dita, sono sprovviste di pannicolo adiposo, di venature e di deposito di grasso nei siti ove ordinariamente esiste, la grana è grossolana, i fasci muscolari sono assottigliati facilmente sgregabili, con connettivo lasso non infiltrato di grasso, trasparente, facilmente rigonfiabile coll'insufflazione. Il succo di tali carni è pallido, giallastro o rosco pallido, di reazione ora alcalina ora acida, di odore insipido, che diventa tosto disaggradevole, acre e piccante. La carne magra, esposta all'aria si dissecca, si annerisce e si ritrae più o meno rapidamente perdendo una gran parte del primitivo suo peso per la maggiore evaporazione; è inoltre insipida, priva affatto di sapore aggradevole, senza aroma, dura a cuocersi e raggrinzantesi.

Una distinzione, inattuabile all'atto pratico, è quella fatta delle carni magre in: *marasmatiche, cachettiche, idroemiche o magre per malattia*; migliore è la distinzione in *carni magre sane* e *carni magre malate*, le prime in cui la magrezza è dovuta soltanto alla deficienza del grasso e della carne, le seconde a malattie.

La magrezza delle carni può dipendere dall'età molto avanzata dell'animale, da lavoro esagerato, da allattamento sforzato o prolungato, da deficiente alimentazione, da malattie gravi, da diarree ostinate, da zoppie croniche e dolorose, ecc. Nel maggior numero dei casi tali carni sono da proscriversi dal consumo, tanto più se non si può stabilire la loro provenienza e quindi la causa della magrezza; tuttavia, per non pregiudicare di molto l'interesse del venditore e per favorire le risorse alimentari assai scarse, si permetterà la vendita di quelle carni magre appartenenti ad animale stato visitato e riscontrato sano, che hanno conservato una certa compattezza, e che non si trovano infiltrate di siero, nè sono di cattivissimo aspetto. Tali carni però dovranno essere vendute in appositi spacci, o basse macellerie, ed a pochissimo prezzo.

**ANIMALI NATI MORTI.** — Nelle campagne, ed anche nelle città, taluni disonesti speculatori mettono, di contrabbando, in vendita vitelli ed altri animali nati morti; taluni salumieri anzi dei feti porcini, ne fanno poi dei particolari prodotti che mettono in vendita nei loro negozi come cosa molto prelibata.

È negli ultimi tre mesi della gravidanza che si cerca di trar partito di questi esseri ancora imperfetti; epperò la frode viene facilmente scoperta dall'intelligente osservatore badando ai seguenti segni: la carne degli animali morti, e dei feti, è molle, pallidissima, umida, come imbevuta d'acqua, gelatinosa, facilmente spalpabile, fortemente attaccaticcia alle dita quasi come la colla, infiltrata di una gran quantità di siero bianco sporco. Le ossa sono tenere, flessibili; le epifisi non sono saldate col corpo dell'osso; le superficie articolari sono rosee; la midolla è rossa e non contiene che una piccola porzione di grasso. Avendo a disposizione il corpo intero, la docimasia idrostatica può dimostrare che l'animale non ha respirato: si prende un pezzo di polmone dell'animale che si vuole esaminare e lo si mette in un secchio riempito di acqua; se il pezzo sta a galla, vuol dire che apparteneva ad animale nato vivo, se per contro andrà a fondo, a nato morto, o ad un feto.

La carne dei nati morti è insipida, indigesta, tenerissima, per cui facilmente enoe, attaccaticcia alle labbra, pochissimo nutritiva e l'effetto che provoca in quelli che ne fanno uso è la diarrea; si deve quindi escluderla affatto dalla consumazione.

La carne invece dei feti trovati nell'utero di vacche abbattute gravide potrebbe, secondo esperienze di Brotzu e Sanfelice, essere senza danno adoperata per l'uso alimentare; ma i più stanno per il sequestro di esse, non avendo tali carni molto valore nutritivo, nel mentre possono essere causa di diarrea.

**ANIMALI TROPPO GIOVANI.** — Per sopraggiunti malanni, o per trar maggiore profitto possibile dal latte, avviene spesso che si macellano vitelli, agnelli, capretti, in età ancora troppo tenera, troppo giovane, dopo soli alcuni giorni di vita. Questo fatto, che pregiudica fortemente l'interesse del consumatore, si ripete assai di frequente in ispecie nelle campagne; vuolsi per la difficoltà di sorveglianza, vuolsi perchè riesce poco facile apprezzare, dai non tecnici, la prima età di questi animali, aventi uno sviluppo più o meno precoce secondo la razza ed il genere d'alimentazione.

Le carni degli animali giovani si mostrano molli, umide, d'un rosso pallidissimo, o bianche, e gelatinose; le fibre si lacerano facilmente e non sono penetrate di grasso; il tessuto adiposo dei reni, se pur ve n'ha, è grigiastro o giallastro e molle; le arcate costali e tutte le ossa sono flessibili; la midolla delle ossa lunghe è rossastra, molto molle; la carne è ricca d'acqua, per

cui, tutt'al più, si può permetterne la vendita a mitissimo prezzo nelle basse macellerie.

I regolamenti attuali son troppo rigorosi prescrivendo un elevato limite di età per l'accettazione degli animali al macello, e cioè di un mese pei bovini e suini e di venti giorni per gli ovini, senza tenere presente che per certe specialità salumiere occorrono animali di pochi giorni di vita (maialetti, ecc.); e che in animali precoci e bene alimentati (col latte) le carni si fanno buone molto più prestamente delle epoche sopraindicate.

**ANIMALI MALTRATTATI PRIMA O DURANTE LA MACELLAZIONE.** — I maltrattamenti inflitti agli animali prima e nell'atto di condurli al macello, provocano nelle carni alterazioni degne di nota.

Essi si riferiscono al metodo per l'applicazione del dazio, a marcie forzate ed accelerate, a cattivi mezzi di trasporto sulle ferrovie, a percosse, a violenti esercizi, a brutali coercizioni, a dolorose operazioni, a parti laboriosi molto, e difficili ad effettuarsi, ecc. Le carni di questi animali si presentano di colore rosso oscuro, ricche di sangue, di facile e pronta corruzione, con qua e là ecchimosi, infiltrazioni sierose, e subattitire. Il grasso è spesso molle, giallognolo come liquefatto; il fegato è di color oscuro, e la cistifellea piena di bile di colore molto carico; tutti gli altri organi più o meno congestionati. Alla cottura tali carni danno un brodo acido di odore disgustoso poco succolento e soggetto a facilmente alterarsi, ed un lessò insipido, disagiata, indigesto che hanno provocato, specie il primo, dei veri avvelenamenti, delle intossicazioni gravi, seguiti da morte, che consigliano perciò a escluderle sempre dal consumo. Gli stessi fatti si hanno quando per un imperfetto metodo di uccisione degli animali, questi hanno dovuto subire una penosa e lunga agonia.

I regolamenti d'igiene, ad impedire i suaccennati inconvenienti, impongono un migliore sistema di dazio, un riposo adeguato per gli animali sino a che si sono riavanti dagli strapazzi, ed un metodo di macellazione pronto ed efficace.

**ANIMALI NON O MALE DISSANGUATI.** — Il dissanguamento o salasso negli animali da macello serve per privare la carne del sangue che contiene durante la vita, e la di cui presenza favorirebbe molto la fermentazione putrida, e quindi la decomposizione della carne stessa. Il salasso, se fatto bene, conserva certo più a lungo le carni, ed infatti gli Ebrei, che, scannando gli animali, usano un metodo di uccisione, il quale dà una quantità di sangue maggiore di quella data con tutti gli altri processi, si procurano una carne di assai più lunga conservazione.

Talvolta il dissanguamento non viene fatto perchè non si arrivò in tempo, e l'animale morì da sè per la malattia, ovvero vien fatto nello stato preagonico *post mortem*, o imperfettamente; in questi casi si avranno le carni cosiddette *sanguinose* o *piene di sangue*. La mancanza assoluta o l'imperfezione del salasso imprime alle carni i seguenti caratteri: i grossi vasi sono pieni di sangue ordi-

nariamente coagulato, il connettivo è rossastro infiltrato qua e là di spandimenti sanguigni; le sierose splasniche o articolari, i legamenti, le aponeurosi, i tendini sono rossastri; i muscoli hanno una tinta rosso-fosca ed esalano un odore acido; i polmoni sono voluminosi di un rosso-scuro, e con l' incisione danno una grande quantità di sangue nero; vi ha inoltre una infiltrazione sierosa rossastra del connettivo occupante la faccia interna delle spalle. Il taglio delle carni lascia colare una più o meno considerevole quantità di sangue nero; il connettivo intermuscolare mostra dei piccoli vasi pieni di sangue nerastro, ovvero piccoli punti echimotici, per sangue sortito dai capillari. Meno nei rari casi in cui il deficiente dissanguamento sia avvenuto per un fatto palese e non alterante le carni, in tutti gli altri è prudente la distruzione dell'animale.

**ANIMALI MORTI ACCIDENTALMENTE.** — Le carni degli animali morti istantaneamente, per commozione, in seguito a cadute o a colpi ricevuti casualmente sul capo, per sincope, per apoplessia, per asfissia, sia dessa provocata dall'inspirazione in atmosfera ricca di ossido di carbonio, sia in conseguenza di meteorismo o colica ventosa, offrono caratteri molto simili a quelli indicati precedentemente; ma però tali carni, benchè ricche di sangue, possono venire consumate impunemente, sempre che lo siano presto e prontamente. È provato infatti che esse si decompongono con somma facilità in seguito all'alterazione pronta del sangue che, non avendo potuto esser tolto, fortemente le imbeve e le impregna.

Le carni degli animali colpiti dal fulmine, o morti in seguito ad incendio, sono come carbonizzate, colle note di profonde scottature di vario grado. Questo stato però talora affetta solo la parte superficiale, mentre profondamente esse si sono mantenute ancora intatte, od hanno subito una lieve alterazione nella loro compattezza pel calore statole trasmesso. Noi più volte abbiamo avuto l'occasione di esaminare tali carni e di dare il nostro giudizio, epperò, mentre nei casi lievi crediamo si possano senza danno consumare, nei gravi l'azione del calore e del fumo prolungato provoca in loro tali alterazioni da far sì che le carni riescono non utilizzabili, e da proscriversi per uso d'annona, anche pel sapore amaritico disagiata che le impregna, e per il forte disgustoso odore di fumo.

Talvolta l'animale muore repentinamente per emorragia interna, per rottura di un vaso importante ed uscita del sangue nella cavità toracica od addominale. Simili casi conseguono alle coliche violenti, a sforzi enormi nel tirare carichi pesanti, a deplorabili manovre nell'utero per parti anormali, ecc. Nei casi d'emorragia interna, le carni si presentano pallide, slavate, anemiche, molli come se si fossero lasciate per un po' di tempo nell'acqua, facilmente sfibrabili. Esse cuociono con somma facilità, danno un brodo insipido ed un lesso per nulla aromatico e gustoso; infine, se non si consumano presto, assumono un aspetto disgustoso per lo spappolamento pronto dei tessuti, per la decomposizione che in taluni casi ne conseguita.

In tutti i casi suindicati i regolamenti vigenti lasciano al prudente giudizio del sanitario il determinare se e quali parti devono essere ammesse al consumo, dopo l'eseguita accurata visita degli animali.

### Alterazioni delle carni.

La carne degli animali appena macellati, mantiene ancora per un dato tempo una certa contrattilità manifesta in ispecie nei muscoli masseteri o delle ganasce, e della coscia. Dopo qualche ora però ogni segno di vitalità si spegne completamente, e la carne si ritira alquanto su sè stessa, si indurisce, per la coagulazione della miosina, e si asciuga, perdendo una certa quantità d'acqua per l'evaporazione. Questo nelle condizioni ordinarie, e se dopo qualche giorno la carne viene consumata, oppure non esposta ulteriormente all'influenza degli agenti esterni; in caso contrario la carne si altera per le seguenti cause principali:

a) INFLUENZE ATMOSFERICHE. — *L'aria umida*, le piogge persistenti, le nebbie ed i temporali, lo scirocco, rendono le carni molli, floscie, più pesanti, così che difficilmente si asciugano, e rimangono di colore sbiadito, nerastro o smorto, con grasso giallo-verdognolo, oleoso.

Queste carni al taglio mancano di resistenza epperò sono cedevoli molto alla pressione delle dita, di cui conservano marcatamente l'impressione; esse inoltre si alterano con grande facilità, per cui in pochi giorni si corrompono, si inizia in loro la decomposizione putrida, che si avverte tanto pel colore sbiadito sporco, quanto per l'odore marcato, particolare, disagiabile, acre, irritante che emanano, e che è così penetrante da essere sentito anche ad una certa distanza.

*Al sole, all'aria secca e fredda*, la carne si annerisce, si dissecca, si raccorcia e raggrinza su se stessa per modo da rendere più appariscenti le eminenze ossee su cui si inserisce; alla sua superficie si forma una vera crosta più o meno dura, nera, secca, coriacea e profonda, secondo il tempo che su di essa hanno agito il sole ed il vento; al disotto però di questa crosta la carne ha conservato il suo colore particolare, e tutti gli altri caratteri della buona qualità e freschezza. Se l'azione del sole durò a lungo, in ispecie su una parte grassa od in vicinanza delle ossa, allora rapidamente si inizia la corruzione, ed è là che di preferenza le mosche fanno sito di deposito delle loro uova. I tendini, le aponeurosi d'involuppo, il connettivo, pure si raccorciano e disseccano per modo da riescire duri e ruvidi al tatto.

*Il freddo intenso*, come d'inverno, congela la carne, la rende momentaneamente dura e più resistente; al taglio la carne congelata lascia vedere fra i fasci delle fibre muscolari dei piccoli punti ghiacciati. Col freddo in-



tenso (4°-12° sotto zero) la carne si conserva indefinitamente. Perciò annesso ai mattatoi o ai mercati si costruiscono le *celle frigorifere* per salvare dalla corruzione tante razioni di albumina che altrimenti andrebbero perdute. E così l'Argentina e l'Australia mandano eccellenti carni fresche in Europa.

La carne difficilmente viene consumata appena macellata, riuscendo in questo stato dura, figliosa, coriacea ed indigesta; in genere la si cucina e la si mangia dopo alcuni giorni, allorchando cioè ha subito una conveniente *frollatura*, frollatura che in ultima analisi non è altro se non un principio di dissoluzione, di decomposizione dei tessuti che la costituiscono.

Col concorso del calore, dell'umidità e dell'aria, a seconda delle stagioni e delle condizioni atmosferiche, in tempo più o meno lungo, la carne imputridisce, subisce cioè la *fermentazione putrida*, prestandosi come terreno propizio allo sviluppo e moltiplicazione di microrganismi (vedi pag. 32). Essi sono numerosissimi nell'aria, attaccano la carne prima all'esterno e poi profondamente, dando così luogo allo sviluppo di acidi e di sostanze aromatiche donde l'odore penetrante, caratteristico. Per il processo della putrefazione si formano eziandio delle sostanze velenose e che sono causa diretta dei gravi sintomi che talora si manifestano in coloro che mangiano carni putrefatte anche cotte, distruggendo la cottura i microrganismi, ma non le sostanze tossiche suddette.

La putrefazione si manifesta più prestamente nelle carni di animali morti od abbattuti per processi piocemici o setticemici, nei quali la produzione delle ptomaine incomincia già durante la vita degli animali ed aumenta notevolmente dopo la morte, anche per la presenza di microrganismi provenienti dall'intestino.

La carne putrefatta ha un odore disagiata, ributtante, caratteristico; diventa molle, untuosa, spappolabile, di colore pallido lavato, con punteggiature e macchiette bianco sporche; il connettivo è floscio, umettato con tinte verdastre, gonfio, infiltrato di gaz; il grasso pure si fa molle giallo-verdognolo, puzzolente, per l'ossidazione dei principi che lo compongono, rendendo liberi acidi grassi volatili puzzolenti.

La carne da qualunque animale provenga, si corrompe sempre più prestamente e più completamente in vicinanza delle ossa e degli ammassi di gras o, negli interstizi muscolari, là dove l'aria ed i germi che vi sono sospesi hanno un più facile accesso e trovano le condizioni più propizie, più favorevoli per soddisfare i bisogni e le esigenze della loro vita.

La putrefazione della carne è resa più rapida dai forti calori estivi, dai tempi procellosi e di sciocco, dalla provenienza degli animali (la carne di majale si altera più facilmente), dalla loro età (giovani), dal loro stato di

nutrizione (magri), di salute (malati), di riposo (stanchi) e dalla loro speciale alimentazione (residui di distillerie), nonchè dalla presenza di uova o larve d'insetti (mosche), come diremo appresso.

La decomposizione putrida della carne può dar luogo, abbiamo detto, in chi ne faccia uso, ad un vero intossicamento, più o meno grave, e l'apparato fenomenologico nell'uomo viene designato sotto il nome generico di *botulismo*.

b) LARVE D'INSETTI (mosche). — È notorio che in ispecie d'estate, sulla carne si fermano dei mosconi e delle mosche che depositano le loro uova. Il medico inglese M. W. Hope ha constatato che allorchando queste uova o larve di mosche esistono in gran numero sulla carne e con esse vengono introdotte viventi nell'apparato digestivo dell'uomo, possono determinare in essi speciali accidenti (conati di vomito, dolore di capo, ecc.), che ha descritto sotto il nome di *myasis*, mentre Klerby e Spence parlano invece di *scolecchiasis*. Fra le specie di mosche più pericolose per la carne, in ordine di gravità sono da segnalarsi le seguenti:

1° *la mosca bleu o grossa mosca da carne (musca vomitoria)*: è immensamente fecondatrice, è quindi la più temuta; essa abbandona sulla carne oltre le uova anche una sorta di liquido che ne accelera la putrefazione. Le uova si trasformano in larve o piccoli vermi bianchi, ovali, di rapido sviluppo. Chiunque conosce il rumore sonoro, di ronzamento, che annunzia la presenza, e lo approssimarsi ad un pezzo di carne, dell'avidà e ghiotta mosca bleu:

2° *la mosca grigia o mosca carnaria (musca carnaria o sarcophaga carnaria)* è la più grossa di tutte le mosche, ed è pur rimareabile per la prodigiosa sua fecondità, depositando venti larve alla volta, cento a duecento su una lunghezza di 7 mm., ed una media di ventimila su una piccola porzione di carne (Oken). Le sue larve sono bianche, molli, sfornite di zampe, terminanti in punta anteriormente, tronche alla loro parte posteriore, la sua bocca è una tromba munita di due uncini scagliosi, adatti molto per lacerare e dividere;

3° *la mosca ordinaria (musca domestica)* è particolarmente la disperazione delle beccherie per la persistenza colla quale ritorna subito nella stessa località dopo avernela scacciata, e per la sua fecondità. Secondo Megnin sarebbe la sola che possa trasportare il carbonchio dai cadaveri dei morti per questa malattia agli animali sani, succhiando il sangue di quelli, o semplicemente imbrattandosi le zampe. Studi del Perroncito e nostri invece tendono a dimostrare che anche le altre mosche, moschicine e zanzare sono capaci, al pari degli stomossi, sia d'infettare l'uomo, sia la carne, dopo essere stati su cadaveri d'animali morti carbonchiosi o di altre malattie infettive trasmissibili;

4<sup>o</sup> la mosca dorata (*musca caesar* o *lucilia caesar*) ricerca più le carni putrefatto che le fresche; essa divora i cadaveri, in ispecie i cadaveri infetti (Raspail). Si riscontra più raramente delle altre, e nelle retrobotteghe negli angoli ove furono abbandonati dei pezzi di carni decomposti (fig. 278).

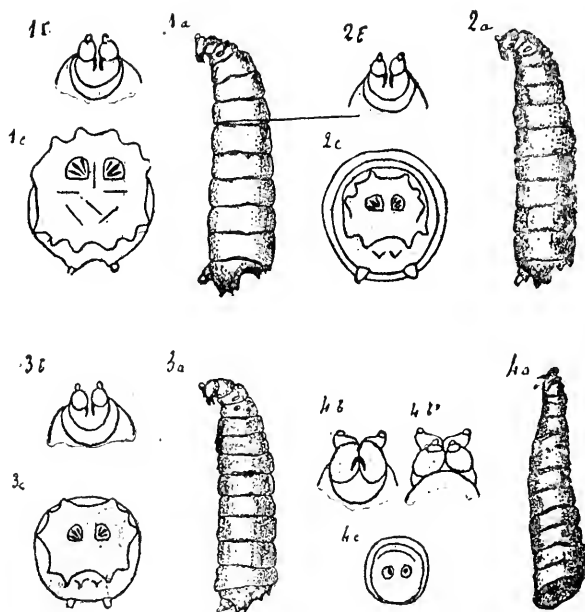


fig. 278. — Larve di mosche: 1. *Farcocibara carnaria*; 2. *Colipta vomitoria*; 3. *Lucilia caesar*; Mosca domestica: a, la larva ingrandita tre volte; b, parte anteriore ingrandita; c, parte posteriore ingrandita. (Mègreins).

Malgrado la ripugnanza che si ha di usare delle carni sopra cui siansi depositate le mosche e sviluppate le loro larve, tuttavia però tali carni non si dovranno proscrivere che allorquando fossero in incipiente putrefazione, o contenessero uova o larve in grandissimo numero; in caso contrario, levata la parte che contiene le larve per la profondità di 3 a 5 cm., il restante della carne si può impunemente mangiare. Il dott. Jannuzzi avrebbe trovato che tanto le uova quanto le larve delle mosche, specie della *vomitoria*, giunte nello stomaco non vengono digerite perchè rivestite esternamente da uno strato di chitina, inattaccabile dai succhi gastrici. Pervenute vive nell'intestino le larve provocano dolori violenti ed accessi, vomitrazioni, cefalgie e copiose diarree, con esaurimento consecutivo di forze.

In tesi generale, massime in estate, si dovrà avere ogni cura per schivare la presenza e deposito delle mosche sulla carne, anche pel pericolo, come abbiamo già detto, di comunicazione della terribile malattia carbonchiosa, nonchè di tutti gli altri morbi infettivo-contagiosi trasmissibili dagli animali all'uomo, come anche sperimentalmente hanno provato Celli, Alessi ed altri, e come la pratica talora ha fatto vedere possibilissimo. A tale scopo nei regolamenti d'igiene è prescritto che, specie in estate, le carni siano coperte con panni puliti, o tenute in armadi con sportelli muniti di retine metalliche e tenuti in luoghi oscuri, freschi, aerati.

c) **MEDICAMENTI E VELENI.** — Le modificazioni ed alterazioni imprime alle carni dall'azione dei medicamenti o veleni somministrati agli animali in vita, sono molto difficili ad apprezzarsi.

Fortunatamente avviene di rado che si abbia a fare con tali carni, epperò è bene in tutti i casi, anche semplicemente sospetti, proscrivere affatto dall'alimentazione; tanto più quando è dubbia od ignota la natura del medicamento, o del veleno somministrato.

Riferiscansi a sbagli, ad errori, ad incuria, a cattiveria, i pochi casi di avvelenamento degli animali; oppure a prolungata somministrazione per scopi curativi o zootecnici, come è ad esempio dell'arsenico; od infine per l'azione di erbe velenose date in unione agli ordinari foraggi.

L'azione dei medicamenti e veleni sulle carni, è diversa a seconda della qualità, della quantità e della durata della somministrazione loro. Alcuni di essi lasciano tracce profonde, percettibili ai nostri sensi, negli organi e visceri, o nella compagine della carne; altri invece abbisognano di analisi speciali chimiche, più o meno complicate, per iscoprirne la loro presenza.

L'uso prolungato della *malva* del *decocto di semi di lino*, degli *emollienti* in genere, imprime alla carne una certa mollezza ed imbibizione dei tessuti, un colorito pallido, slavato, con grasso giallastro, poco resistente, di aspetto e di odore oleoso.

L'abuso degli *acidi cloridrico, nitrico, solforico, dell'aceto o del siero di latte* trasmette alle carni l'odore particolare, proprio di questi acidi, che si sente più marcatamente allorchè sono ancora fresche; mentre man mano, in seguito col tempo va scomparendo. Lo stesso si ha dall'abuso dei *residui di distilleria* o fabbricazione dell'alcool e di quelli della birra, ormai usatissimi per l'ingrasso degli animali.

Gli *astringenti* non producono alterazioni apprezzabili sulle carni, ed anzi alcuni di essi, come le *ghiaude*, entrano nell'alimentazione giornaliera dei maiali con forte beneficio del loro lardo che diviene migliore, più sodo, nel mentre prende anche più facilmente il sale. La somministrazione interna, continuata *dell'ammoniaca*, dà alle carni un odore ammoniacale pronunciato e tale da farle escludere dalla consumazione. Del pari il *fosforo l'atcool*, la *camomilla*, l'*assenzio*, trasmettono il particolare loro odore alle carni, che, alterandone quello a loro proprio, le rendono poco aggradevoli ed accettate al consumatore.

Il *cianuro di potassio*, nelle carni, è avvertito per l'odore di mandorle amare, la *digitale* per la mollezza e la decolorazione dei muscoli. L'*etere* impregna fortemente le carni, e per modo che sebbene esposte all'aria, superficialmente, sembrano abbiano a perderne l'odore, tuttavia messe nell'acqua tornano a farlo sentire come prima. Lo stesso verificasi per la *canfora* e l'*assafetida*, nel qual ultimo caso svolgesi un odore agliaccio piccante, penetrantissimo.

L'uso prolungato dei *mercuriali* produce un'intossicazione generale nell'organismo, manifesto nelle carni per la decolorazione e friabilità eccezionale loro, o per un rammolimento generale dei pezzi ossei componenti lo scheletro.

L'*essenza di trementina*, lo *solfo* e il *solfuro di potassio*, donano alle carni, la prima l'odore suo proprio, i secondi un odore d'acido solfidrico talmente pronunciato, da renderle facilmente riconoscibili siccome improprie al consumo.

L'*jodoformio* usato per la medicazione di piaghe o ferite esterne impinge il suo odore anche alle carni. Al mattatoio di Roma venne macellato un bue che avea un piede medicato collo jodoformio; il giorno dopo il macellaio ci portò un pezzo di carne e la lingua del detto bue stati rifiutati perchè puzzavano di jodoformio.

Veniamo per ultimo ai due più comuni ed importanti veleni: l'*acido arsenico* e la *noce vomica*, usati molto nella pratica. Per isceprirne però la loro presenza nella carne ed organi necessitano di processi pei quali è meglio in ogni singolo caso ricorrere al chimico. Tuttavia del primo, malgrado gli allarmi messi innanzi da alcuni, dobbiamo dichiarare che gli ultimi esperimenti fatti in Italia ed all'estero sul suo uso negli animali per favorirne l'ingrassamento, hanno stabilito chiaramente che, quando anche sia prolungato, non avviene mai che si depositi nella carne e nei visceri in tale quantità da riescire tossico, nocivo; della seconda, o *noce vomica*, poi si potrebbe dire lo stesso, meno pel fegato che pare il sito prediletto di deposito del principio attivo di tale medicinale, e cioè della stricnina, fegato che dovrebbe perciò venire sempre eliminato dal consumo.

*In generale* la maggior parte dei medicamenti o veleni agiscono direttamente su dati visceri od organi, senza che la carne vi partecipi, od in via secondaria; ed in quelli o rimangono allo stato primitivo, o si decompongono formando dei corpi nuovi,

che vengono o non in seguito eliminati per le vie naturali del corpo.

Le ultime esperienze avrebbero dimostrato che le carni di animali uccisi coi più potenti veleni riescono quasi sempre innocue. Meth consiglia invece quanto segue: gli animali avvelenati devono essere macellati e la loro carne permessa per uso alimentare, solo quando:

1° la natura del veleno è stata scoperta con certezza prima o dopo la macellazione;

2° il veleno scoperto è uno di quelli esaminati scientificamente e considerati innocui per l'alimentazione;

3° il veleno non ha prodotto accidenti ed alterazioni notevoli nel corpo dell'animale macellato.

**CARNI ROSSE.** — Müller e Erdmann hanno osservato per primi sulla superficie della carne di un vitello, dopo la cottura, un colore rosso sanguigno dovuto secondo essi all'esistenza di speciali vibriani.

Queste eliazze rosse sono state più tardi osservate da altri, ed anche da noi, sulle carni suine; e dipendono dallo sviluppo del *b. prodigiosus*, il quale si trova di frequente anche sulle altre sostanze alimentari tanto d'origine animale quanto d'origine vegetale.

Le parti aventi questa alterazione devono essere escluse dall'alimentazione, per quanto non ancora risulti in modo sicuro provata la loro nocività.

**CARNI FOSFORESCENTI E LUMINOSE.** — Antichissima è la conoscenza del fenomeno presentato da alcune carni di bue, ma più da quelle di porco, dell'emissione cioè della luce, o fosforescenza. La fosforescenza è solo dovuta alla presenza di batteri fosforescenti (*photobacterium pflüggeri*, *bacterium phosphorescens*, *photob. fischeri*, *balticum*, *indicum*, *luminosum*). La fosforescenza sebbene non renda per se stessa pericolosa la carne, ne mostra però spesso un'impropria conservazione, ed infatti la carne ha sovente un sapore cattivo, nauseante, di stantio, ed offre talvolta anche gli altri caratteri della più o meno avanzata decomposizione.

Secondo taluni quando la fosforescenza non è molta, basterebbe asportare la parte superficiale corrispondente, consumando il resto; ma noi riteniamo che sia meglio eliminarla dal consumo in totalità, perchè la fosforescenza è spesso associata ad alterazione della carne.

**CARNI BIANCHE.** — Fu Baillet il primo che ebbe ad osservare la bianchezza delle carni appartenenti ad un bovino adulto. In

seguito Villain e qualche altro riscontrarono lo stesso fatto, e lo ritennero conseguenza di una speciale anemia dovuta alla diminuzione della materia colorante del sangue. Dette carni non differiscono dalle normali se non per essere meno gustose, un po' più asciutte, comunque siano cucinate.

Noi abbiamo qualche anno fa osservato carni di un colore biancastro in un bue sardagnolo di 5 anni. Non tutti i muscoli erano scolorati, ed alcuni in totalità, altri in parte. Credevamo che si trattasse di uno dei casi succitati, mentre invece l'esame microscopico fece constatare che si aveva a che fare con un' *eccessiva infiltrazione grassosa* dei muscoli che avea perciò schiacciate, atrofizzate le fibre muscolari. A noi non consta che altri abbiano osservato tale fenomeno prima di noi.

**CARNI ODOROSE.** — Le carni possono acquistare speciali odori oltrechè per l'uso di medicamenti, come abbiamo detto, anche per certi alimenti: fieno greco (*trigonella foenum graecum*), panelli rancidi di colza, ecc.; per attossicamento uremico od ammoniaco, donde il nome di *carni urinose*, ecc. ecc. Le prime di queste carni devono venderci nelle basse macellerie, e quest'ultime escludersi affatto dal consumo.

**CARNI AMMUFFITE.** — La carne ammuffisce per lo sviluppo delle ordinarie muffe le di cui spore si trovano in abbondanza nell'aria (*penicillium glaucum*, *mucor mucedo*, *m. rhizopodiformis*, *m. racemosus*, *aspergillus glaucus*, *oidium aurantiacum*, *ascophora nigricans*, ecc.).

La carne ammuffita (che spesso si ha in quella conservata nelle grotte o in altre località umide) ha un aspetto cattivo ed odore, uno spiacevole gusto e può riuscire nociva a chi ne faccia uso, per cui è bene proscriverla dal consumo.

**CARNI CON FUMO DI TABACCO.** — Bourrier ha fatto delle esperienze sui cani somministrando ad essi delle carni con fumo di tabacco perchè preparate in un ambiente saturo dove erasi fumato molto, e dal risultato di esse concluse:

1° che il fumo di tabacco rende nociva la carne pel deposito in essa dei prodotti tossici che contiene;

2° che possono gli alimenti, preparati nei laboratori ove siavi un'atmosfera carica di fumo di tabacco, riuscire dannosi al consumatore;

3° che forse a ciò si possono riferire taluni avvelenamenti dovuti al consumo di carne che pareva sana. Si renderebbe pertanto

necessario proibire di fumare non solo nei macelli, in specie in quelli a sistema cellulare, ma più ancora nei laboratori di carni insaccate e preparate.

### Carni malate.

Non è qui il luogo opportuno per entrare a dire in esteso delle malattie cui vanno soggetti gli animali da macello, essendo questo il compito del patologo; a noi basterà citare le tracce lasciate da esse sulle carni onde poter con assennato giudizio escluderle dall'alimentazione quando possono arrecare danno a chi ne faccia uso.

Rimandando quindi ai principali trattati di medicina veterinaria coloro i quali desiderano maggiori ragguagli in proposito, riteniamo malate le carni provenienti da animali morti o macellati in seguito a *malattie infiammatorie*; a *malattie contagiose*; a *morbi parassitari*.

1. MALATTIE INFIAMMATORIE. — Queste malattie sono in genere particolari e localizzate ai singoli organi e visceri, per modo che difficilmente inducono alterazioni profonde nelle carni. Aventi un decorso per lo più breve, o si risolvono colla guarigione, oppure producono la morte dell'animale; come quando affettano organi importanti alle funzioni vitali; o degenerano in una forte febbre di reazione generale, incompatibile coll'esistenza. In tutti i casi il tempo, o la durata della malattia, è sì breve che ben poche tracce lascia sulle carni; e riferiscansi per lo più a quelle indicate per le carni piene di sangue. Si danno tuttavia dei casi in cui il processo infiammatorio si fa cronico, stabilendo così un continuo squilibrio nelle funzioni normali del corpo, e quindi un deperimento più o meno pronto e pronunciato nella nutrizione generale. In questo secondo caso si avrà a che fare con carni magre, pallide, anemiche, spesso infiltrate di siero, giallognole poco saporite e poco nutrienti.

Le carni degli animali stati affetti da *itterizia grave*, da *cachessia ictero-remiunosa*, da *idropisie generali*, sono pallide, slavate, molto friabili, imbevute di siero, attaccaticcie, giallastre o giallo-verdastre, d'aspetto ributtante, epperò da proseriversi dall'alimentazione.

Nei casi di *affezioni gravi dei reni*, di *calcoli della vescica e dell'uretra*, può avverarsi l'intossicamento uremico od ammoniacale del sangue, per l'arresto od inmissione in esso dei materiali che normalmente vengono eliminati coll'urina; ed allora le carni tramandano un odore marcato d'urina, in specie i muscoli sotto-lombari e le pelvi, che sembrano quasi cotte, imbevute di



siero giallastro, con grasso molle, tremolante; ciò soprattutto marcatamente si ha allora quando è avvenuta anche la rottura della vescica e lo svuotamento dell'urina nella cavità addominale. In tutti i casi l'uso di tali carni verrà senz'altro proibito.

Il *reumatismo muscolare ed articolare*, la *gotta*, l'*osteomalacia*, la *rachitide*, l'*artrite*, ecc., non inducono alterazioni nelle carni se non nei casi gravi; epperò possono servire d'annona, benchè abbiano perduto alquanto del primitivo loro valore nutritivo, ma devono essere smerciate nelle basse macellerie.

Le malattie consecutive al parto, quali la *metrite*, la *metro peritonite*, e così via, nel maggior numero dei casi sono seguite da gravi infezioni generali, per l'assorbimento di materiali putridi, e quindi dalla *piemia*, dall'*icemia*, dalla *setticemia*, che alterano per modo la costituzione delle carni da renderle molli, floscie, imbevute di siero, sciolanti, facilmente alterabili, di odore disgustoso, di sapore ingrato, e tali da doverne proibire affatto il consumo, tenendo eziandio dei veleni organici.

La *pleurite*, la *pneumonia*, l'*enterite*, la *dissenteria*, ecc., lasciano poche tracce di sè nelle carni, meno nel caso in cui durano a lungo, e danno luogo a complicanze e a metastasi.

Infine nei casi di *lesioni traumatiche*, od *accidentali locali*, o di *gangrena*, per cause qualsiasi, il pezzo di carne colpito e che ne soffre offre tali caratteri da essere conosciuto facilmente anche da chi non è molto versato in tali esami. L'aspetto lardaceo, chiazzato d'echimosi, la mollezza, o viceversa la consistenza coriacea, l'odore piccante, proprio, particolare della mortificazione dei tessuti, le tracce d'infiltrazione purulenta od icorosa della carne, basteranno per far sospettare la sua provenienza, proscrivendole dal consumo.

2. MALATTIE CONTAGIOSE. — Alcune di queste malattie, potendo essere trasmesse dagli animali all'uomo, meritano uno studio speciale per mettere in grado chi è interpellato di rispondere in modo da saper tutelare la salute del pubblico. Tali sono: le *setticemie*, il *carbuncchio*, la *rabbia*, la *morra* ed il *farcino*, la *tuberculosis*, la *scrofola*, il *cancrio diffuso*, il *vaiuolo*, la *difterite*, il *tetano*, la *corizza gangrenosa dei bovini*, il *mal rossino dei porci*, il *tifo bovino*, l'*afra epizootica*, la *pleuro-pneumonia contagiosa*, l'*actinomicosi*, ecc.

*Setticemie*. — La loro caratteristica è quella di non localizzarsi in un punto od organo soltanto, ma di lasciare tracce in quasi tutti gli organi, mercè più o meno numerose emorragie, circoscritte, puntiformi, o ascessi multipli alla milza, al fegato, ai reni, ecc., ed anche alterazioni necrotiche.

Le setticemie possono quindi essere prodotte da diverse specie di microrganismi, sebbene in veterinaria siasi riservato questo nome soltanto alle malattie prodotte da bacilli ovoidi dette pa-

steurelle dal Lignières in omaggio a Pasteur che scoprì la prima di esse cioè il colera dei polli (V. Batteriologia, pag. 364 e seg.).

Per noi basta citare qui le principali setticemie emorragiche degli animali da macello finora riconosciute per tali, come: il Barbone bufalino, la Setticiemia emorragica dei bovini, la Pleuro-pneumonia settica dei vitelli, la Pneumonia infettiva delle capre, la Pneumonia enterite delle pecore e qualcuna' altra.

Dato lo scopo di questo libro è inutile descrivere singolarmente le suddette malattie, basterà fare osservare che le carni devono essere in questi casi sempre escluse dal consumo.

*Carbonchio ematico.* — La carne appartenente ad animali carbonchiosi offre dati macro e microscopici tali da venire con una certa facilità conosciuta (V. anche Microscopia, pag. 19).

La carne carbonchiosa è di colore rosso sbiadito, la sua consistenza è molle, friabile come la carne cotta, e dimostra qua e là chiazze e spandimenti sanguigni per emorragie avvenute. Essa si riduce facilmente colla cottura lasciando un brodo sanguinolento, oscuro; più invecchia più diviene molle, e più il suo colore si abbruna, nello stesso tempo tramanda un odore acido, fermentato, puzzolente. Il connettivo di tale carne è infiltrato di sierosità citrina, gelatiniforme, spesso giallastra, mucosa, costituente i cosiddetti *essudati gialli-gelatinosi*, in particolare attorno ai reni, ma che si infiltrano perfino nel cellulare dei fasci muscolari. Se si fa un taglio sulla carne si vede tosto sgorgare dai vasi recisi, o dai punti ecchimosati, un sangue liquido, nerastro, piceo, spesso, attaccaticcio, colorante fortemente le mani, di odore cattivissimo, penetrante, fermentato. Tale colore nerastro del sangue persiste ed anzi si fa più intenso sulla carne colla sua ulteriore esposizione all'aria, come pure di esso non avviene la coagulazione; fatto che non si verifica mai nelle altre malattie, compresa l'astissia, in cui il sangue in contatto dell'aria si coagula più o meno prestamente ed acquista un colore più vivo, più rosso. Le pareti vasali, le aponeurosi, e tutti i tessuti ed organi, infine, sono punteggiati in rosso-scuro, o tinti di un rosso violaceo, per suggerazioni, petecchie, imbibizioni sanguigne, avvenute in seguito a rottura di capillari.

La carne carbonchiosa si altera con molta facilità, subisce cioè ben tosto la fermentazione putrida, tramandando un odore acuto e tale da cui è ben difficile, una volta impregnati, potersene liberare.

La nocività della carne appartenente ad animali carbonchiosi è maggiore per chi la prepara, la maneggia, contraendo la pustola maligna, anziché per chi la mangia cotta. Infatti, malgrado osservazioni in contrario, noi abbiamo sempre sostenuto, basati su dati certi e numerosi, come sosteniamo ancora: *che la carne carbonchiosa, una volta cotta, non produce effetti di sorta su chi ne*

*faccia uso.* A questo riguardo anche il Perroncito ha ripetutamente confermato tale asserto, e quindi le premesse di Colin, *che nelle condizioni digestive normali, il virus carbonchioso viene distrutto dal succo gastrico*, vennero pienamente confermate. Con ciò non intendiamo consigliare la consumazione delle carni carbonchiose, troppo conosciute del pericolo per l'uomo e per gli animali che il loro maneggio e trasporto può arrecare: oltredichè l'infezione potrebbe rendersi probabile nel caso che tali carni venissero mangiate non ancora completamente cotte (*beefsteak*), e da persone aventi disturbi o lesioni lungo il tubo gastro-enterico: come lo provano i fatti e le osservazioni antiche sulla *micosi intestinale* di Renault, Butter, Wagner, Waldeyer, e quelli moderni di vari osservatori. In ogni caso val meglio, per evitare tutti gli accidenti possibili, distruggere col fuoco diretto, o colla bollitura, i cadaveri o le carni degli animali carbonchiosi: anche per il fatto che altrimenti si contribuirebbe a diffondere la malattia, ed a mantenere nella località istessa un focolaio continuo di sviluppo del carbonchio.

Se la carne degli animali carbonchiosi resta esposta per molte ore all'aria, specialmente di estate, allora avviene la sporificazione dei bacilli; e, in seguito, se mangiata anche cotta, può non perdere la sua virulenza, resistendo le spore all'ordinaria cottura. È in questi casi che si manifesta allora l'*enterite carbonchiosa*, quasi sempre mortale.

L'uomo infine può ammalare anche di *polmonite carbonchiosa*, separando gli stracci o cardando la lana imbrattati di sangue carbonchioso essiccato (*morbo dei cenciainoli* dei tedeschi e dei *cardatori di lana* degli inglesi).

*Carbonchio sintomatico.* — È una malattia infettiva, diversa dalla precedente e non comunicabile all'uomo, a cui vanno soggetti i bovini di alcune località. Essa è trasmissibile, ma raramente, agli ovini, alle capre, al porco ed al camello. Si presenta con tumori in qualche parte del corpo, e con febbre altissima. Questi tumori subiscono ben presto la necrosi, nei dintorni si ha enfisema, e la parte affetta tramanda un odore ripugnante. La morte avviene per la febbre e per l'assorbimento di questi gas e materiali settici. È quindi prudente di non ammettere al consumo le carni di animali affetti o morti di carbonchio sintomatico o *acetone*.

*Rabbia.* — Le carni degli animali morti od uccisi perchè affetti dall'idrofobia, debbono essere escluse dall'alimentazione, malgrado non si abbiano dati certi e positivi della loro nocività.

Il pensiero solo però di aver mangiato tali carni, potrebbe esser causa di gravi preoccupazioni a chi ne fece uso. Ben diverso il caso in cui si tratti di carni di animali macellati subito dopo avvenuta la morsicatura, o nella prima settimana, per le quali tutti oramai convengono che l'uso di esse è innocuo, e però basta eliminare la parte corrispondente alla morsicatura, e venderle nelle basse macellerie.

Sulla carne in pezzi, appartenente ad animali macellati o morti rabbiosi, disgraziatamente non è possibile riscontrare tracce tali da farne anche solo presumere la provenienza, offrendo essa solo i caratteri delle carni sanguinolenti, affaticate, piene di sangue rosso-oscuro, ordinariamente liquido e viscoso. Per altro consola il fatto che, dagli esperimenti di Hertwig, di Renault e Delafond, e da quelli più recenti di Celli, Sormani ed altri, risulta che il virus della rabbia a contatto degli organi digerenti, si comporta in modo del tutto innocuo. Del resto, Touverin e Decroix mangiarono impunemente carni sanguinanti contenenti virus rabbioso.

*Morva e farcino.* — Sono due manifestazioni dell'istessa malattia: la prima colpisce le vie respiratorie (fig. 279), a preferenza le cavità nasali, sul



fig. 279. — Setto nasale di cavallo con ulcersi ed una cicatrice morvosa stellata.

cui setto si trovano tubercoli, ulcersi e cicatrici stellate; il secondo la pelle. Ad esse vanno soggetti in ispecie i solipedi (cavalli, ecc.), epperò le carni degli animali affetti, dovranno senz'altro escludersi dall'alimentazione, malgrado non esistano fatti positivi sulla nocività loro.

A molti, a noi come a Reynal, non mancano dati positivi certi sul consumo clandestino avvenuto impunemente di tali carni; epperò nel maggior numero dei casi, essendo la morva ed il farcino, localizzati a speciali organi e tessuti, ci sembrerebbe potere senza pericolo adottare, per le carni di simile provenienza, quel trattamento che andremo più innanzi citando per la tubercolosi. Di regola generale però, gli animali mocciosi, o molto farcinosi, giustamente vengono abbattuti e debitamente sotterrati per impedire qualsiasi trasmissione all'uomo ed agli altri animali. Attualmente si sono verificati dei casi di trasmissione della morva agli animali di serragli ed a gatti, per avere mangiato carni crude provenienti da bestie abbattute perchè affette da tale malattia, ciò che potrebbe, in date circostanze, verificarsi anche per l'uomo.

I casi di morva nell'uomo sono avvenuti per il contatto diretto cogli animali mocciosi, custodendoli, curandoli, esaminan-

doli, o dormendo nell'istesso ambiente (stalla), più che per l'uso delle carni. La morva nell'uomo riveste quasi sempre la forma acuta ed è ingnaribile; si può avere però anche la forma subacuta.

Secondochè queste malattie avranno avuto un decorso acuto o cronico, si potranno avere, negli equini, carni infiammate, sanguinolente, od anemiche, magre, pallide, dissanguate.

Il moccio non imprime nessun segno caratteristico nelle carni da farne sospettare la provenienza. Talvolta fra i fasci muscolari si riscontrano dei gangli ingrossati che mettono in sospetto. Si può allora spaccarli e prendere il materiale per esaminarlo al microscopio, per farne colture su patate o meglio degli innesti nelle cavie muschi, onde stabilire con sicurezza la diagnosi.

Pur troppo però, nelle campagne in ispecie, si macellano clandestinamente cavalli morvosi e se ne vendono le carni, o di contrabbando s'introducono in città (spesso insaccate con carne di maiale), con evidente pericolo della salute pubblica: perchè, come fu detto, tali carni sembrerebbero capaci di trasmettere la terribile malattia. Per la diagnosi microscopica e batteriologica della morva v. Microscopia, pag. 21 e Batteriologia, pag. 355.

*Farcino criptococchico.* — Colpisce gli equini e si manifesta con bottoni ed ulceri sulla pelle. È dovuto ad un criptococco scoperto dal Rivolta, e la malattia, nella maggioranza dei casi, guarisce con facilità. Non ha nulla a che fare colla morva, nè è trasmissibile come questa all'uomo, per cui le carni degli equini affetti da Farcino criptococchico circoscritto, senza altre alterazioni, possono essere ammesse al consumo, limitandosi la malattia alle manifestazioni esterne.

*Farcino bovino.* — Non ha nulla di comune colle malattie sopra citate. Affetta i bovini sotto forma di cordoni e noduli duri, indolenti, in ispecie alle estremità, che più tardi rammolliscono e suppurano. Si hanno spesso focolai metastatici alla milza, al polmone ed al fegato, con dimagrimento notevolissimo degli animali affetti; e perciò le carni loro devono essere sequestrate e distrutte.

*Tubercolosi.* — La comunicazione fatta dal Koch al Congresso internazionale antituberculare a Londra sulla non identità della tubercolosi bovina con quella dell'uomo, e quindi sulla poca probabilità di trasmissione di tale malattia dagli animali all'uomo per l'uso delle carni e del latte, ha sollevato molte polemiche. Gli inglesi ed i francesi, infatti, si sono schierati contro tale premessa; e lo stesso Behring asserisce in modo positivo la possibilità della reciproca trasmissione della malattia. Anche altri, che tanto hanno studiato la tubercolosi bovina, conclusero recentemente coll'ammettere la trasmissibilità della tubercolosi dei bovini all'uomo. Casi di trasmissione diretta o per innesto sperimenta-

tale della tubercolosi umana agli animali pure ve ne sono (Arloing ed altri), ed anche di data recente.

Alla tubercolosi vanno più soggetti i bovini ed i suini, non mancano però casi osservati negli equini ed ovini.

Ordinariamente la tubercolosi bovina colpisce i polmoni primitivamente, ed in via secondaria gli altri organi e visceri. Talvolta la tubercolosi è limitata a tutte le sierose, peritoneo e pleure, parietali e viscerali, ed allora abbiamo lesioni simili a quelle delle figg. 280 e 281.

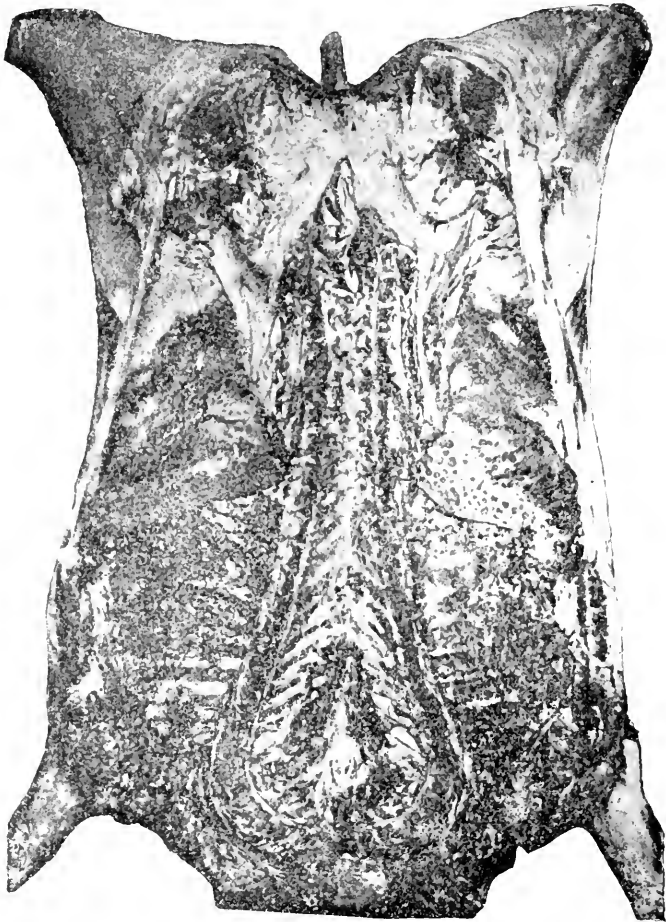


fig. 280. — Grave tubercolosi delle sierose in un bovino (I. Nosotti).  
Sierose parietali.

Il processo anatomico-patologico della tubercolosi bovina decorre in un modo speciale. Si può avere infatti una tubercolosi estesissima ai polmoni senza

avere la generalizzazione del processo, od invece avere un piccolo focolaio al polmone con infezione generale del sistema glandulare linfatico, con focolai secondari ad altri organi. Nel primo caso i tubercoli si trovano ordinariamente allo stato cosiddetto crudo, perlaceo, e la massa tubercolare si trova altresì circoscritta da una membrana connettivale che la separa dal restante polmone sano, in modo che questo, sino a ridosso di essa, è perfettamente respirabile; nel secondo caso invece la generalizzazione del processo è prontamente avvenuta perchè il piccolo focolaio tubercolare del polmone ha subito tosto la degenerazione caseosa, lasciando così aperta la via, o le vie, alla diffusione del processo. Il criterio quindi deve basarsi, non sull'estensione del processo tubercolare al polmone, per ritenere o sospettare che sia avvenuta l'infezione generale, ma sullo stadio del processo stesso, sulle condizioni del focolaio tubercolare, ciò che deve richiamare l'attenzione dell'ispettore sanitario su tutto il resto dell'animale, in ispecie sul sistema ghiandolare linfatico, siccome quella via per la quale ordinariamente si diffonde la tubercolosi. Si noti inoltre che talora i focolai secondari si possono trovare molto distanti dal focolaio primitivo, in un punto che costituisce un *locus minoris resistentiae*: ciò che rende assolutamente e sempre necessario un attento e minuzioso esame dell'intero animale nei casi di tubercolosi bovina.

Talvolta, sebbene più raramente, il sequestro od incapsulamento del focolaio tubercolare può avvenire anche allorchando vi fu disgregamento, degenerazione dei tubercoli, ed aversi così una limitazione del processo, una specie di guarigione della malattia, cosa che si avvera anche nell'uomo.

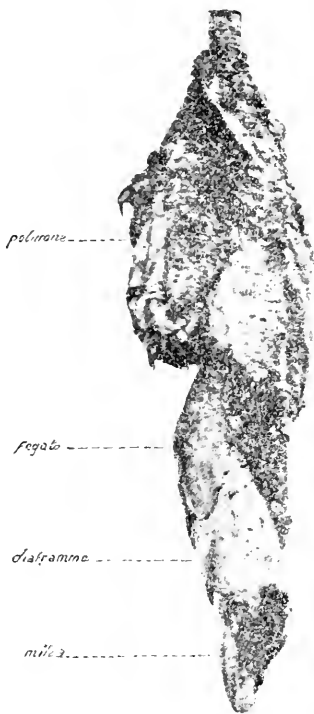


fig. 281. — Grave tubercolosi delle sierose in un bovino (I. Nosotti). Sierose viscerali.

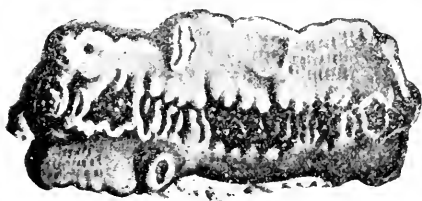


fig. 282 — Intestino tenue con ulcersi tubercolari di una vacca (I. Nosotti).

Non è infrequente negli animali la tubercolosi intestinale (fig.282) primitiva o secondaria alla polmonale. In questo secondo caso nei bovini avviene, come io per il primo feci da anni osservare, *ab ingestis*, cioè perchè l'animale affetto da tubercolosi polmonale non potendo espettorare

ingoia il materiale emesso. Nel caso concreto peraltro è difficile stabilire se la tubercolosi intestinale è primitiva o secondaria, potendo contemporaneamente venire infettate le due vie respiratoria e gastrica. Errano quindi coloro i quali ritengono che la tubercolosi delle glandole mesenteriche sia sempre secondaria, non osservando gli intestini, ecc., mentre talvolta potrebbe essere primitiva, ed anzi lo sarebbe quasi sempre, secondo le recenti comunicazioni del Behring, potendo rimanere latente per anni.

La tubercolosi polmonale bovina riveste talvolta la forma miigliare come all'unita fig. 283, alla quale contrapponiamo l'altra

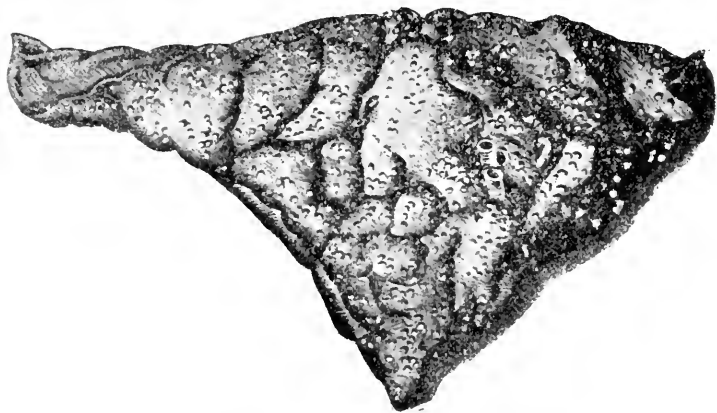


fig. 283. — Tuberculosis iniziale del polmone di un bovino (I. Nosotti).

fig. 284 della tubercolosi umana per far vedere l'identità del-



fig. 284. — Tuberculosis iniziale del polmone di un fanciullo (I. Nosotti).

l'aspetto macroscopico. Altre volte la tubercolosi bovina ai polmoni ed al fegato, anzichè sotto forma di vera tubercolizzazione, si presenta sotto forma di infiltrazione tuberculare come quella che si ha nella tubercolosi inoculata del coniglio (fig. 285). In questo secondo caso i veterinari restano dubbiosi nella diagnosi, ma basterà avere un po' di pratica, osservare le glandule linfatiche, fare altri tagli e l'esame microscopico, per assodare che trattasi effettivamente di tubercolosi, e non di altra malattia.

Quando il processo tubercolare ai polmoni è grave, si rende necessario di esaminare tutti gli altri or-



gani e visceri dell'animale. In un caso simile non ho riscontrato alcun' altra lesione che ai reni, organi che in genere non vengono mai



fig. 285. — Tubercolosi incentrata del coniglio (I. Nösotti).

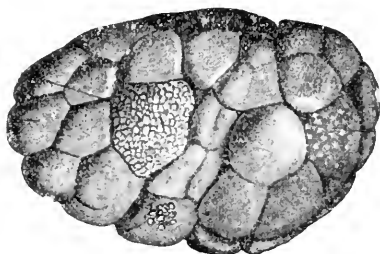


fig. 286 — Rene di bovino con lesioni tubercolari a vario grado di sviluppo.

esaminati, e si trovano coperti dal grasso, mentre ammalano di tubercolosi non raramente manifestando lesioni simili alla fig. 286. Non bisogna dimenticare adunque che nei casi di tubercolosi polmonale si possono avere dei focolai secondari in visceri ed organi a grande distanza (midollo spinale, cervello) e dai gangli linfatici, dei quali ultimi diamo le figure 287 e 288 dei più comunemente affetti.

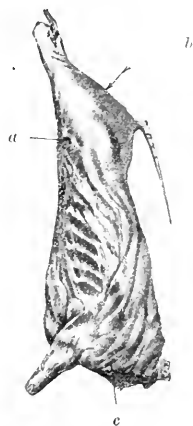


fig. 287. — Metà di bovino visto dall'esterno: a) ganglio popliteo. b) g. preauricolare, c) g. pre-scapolare.

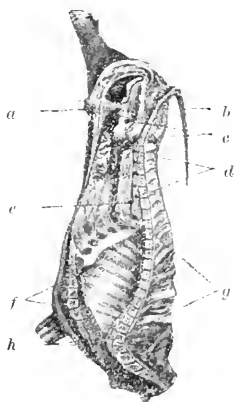


fig. 288. — Metà di bovino visto dall'interno: a) ganglio inguinale superiore, b) g. inguinale profondo, c) gangli iliaci, d) g. lombari, e) g. renali, f) g. sternali, g) g. toracici superiori, h) g. cervicali inferiori.

In fine la tubercolosi mammaria si verifica meno frequentemente di quello che si crede, ed è quasi sempre secondaria alla tubercolosi polmonale ed a quella addominale. Il processo si inizia prima nel connettivo perighiandolare, come dimostrai fino dal 1885, e più tardi interessa gli acini ghiandolari (fig. 289 e 290) rendendo

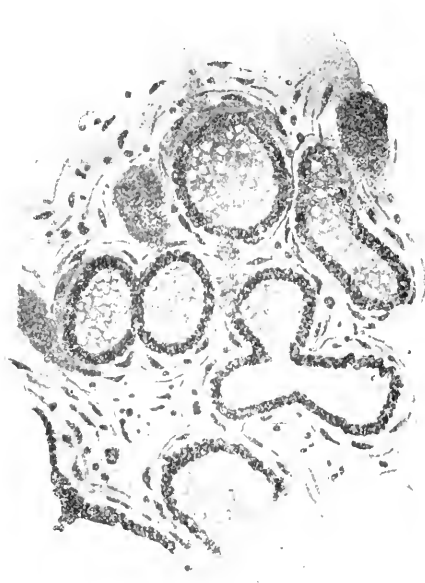


fig. 289. — 1° stadio interessante solo il connettivo perighiandolare (I. Nosotti).

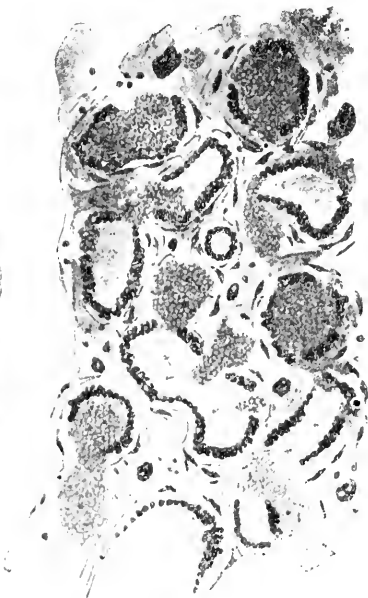


fig. 290. — 2° stadio con partecipazione degli acini ghiandolari (I. Nosotti).

allora pericoloso l'uso del latte: per quanto l'animale affetto ne dia, in questo secondo stadio, in poca quantità, e così alterato, da farlo escludere dal consumo. Anche a mammella intatta però il latte di un animale tubercoloso può riuscire nocivo, in ispecie ai bambini, per le tossine che contiene, come dimostrarono De Michele, Michelazzi ed altri, in esperienze fatte su cagne e su pecore.

Secondo i vigenti regolamenti, nei casi di tubercolosi, se la malattia è limitata ad un solo organo allora si sequestra questo e si permette il consumo delle carni; mentre se è estesa a più visceri ed interessa due cavità, toracica ed addominale, allora si deve fare il sequestro totale dell'animale. Praticamente però non si procede così, ma a seconda dei vari criteri dei sanitari, basati sugli studi e sull'esperienza fatta.

È un fatto che non riesce facile lo stabilire in tutti i casi se la tubercolosi è localizzata o generalizzata, in ispecie dopo quanto abbiamo detto

innanzi; tanto più che, nei bovini ad esempio, questa malattia non provoca i danni distruttivi dell'organismo come avviene nell'uomo, e quindi una tubercolosi anche estesissima può essere compatibile con un ottimo stato di nutrizione dell'animale. Ciò peraltro non deve indurre ad essere troppo correvi nell'ammettere le carni tubercolotiche al consumo, ma a fare un esame accuratissimo dell'animale, e giudizioso (cosa che spesso non si fa) prima di ammettere od escludere tali carni; e, nel caso dubbio, permetterne l'uso, ma dopo sterilizzazione; per eseguire la quale occorre tagliare i quarti di carne e poter vedere quindi se esistono altri focolai. Colla sterilizzazione bene eseguita poi si assicura quasi l'innocuità delle carni. La tubercolosi bovina si estende in un modo allarmante, e colle nuove promesse del Behring, occorre quindi combatterla nell'interesse comparato dell'agricoltura e della salute pubblica. Ciò si otterrà vaccinando i vitelli, facilitando la prova diagnostica della tubercolina, incoraggiando le società mutue di assicurazione del bestiame, impiantando nei macelli gli apparecchi di cottura e sterilizzazione delle carni, nonchè col concorso del governo, degli enti morali e dei proprietari, che dovranno essere in proposito istruiti con opportune conferenze.

*Scrofola.* — Non è che una vera e propria forma di tubercolosi, che affetta a preferenza il sistema delle glandole linfatiche, che si presentano perciò ingrossate, indurite, o degenerate in caseosi. Più frequentemente questa malattia si riscontra nei maiali in giovane età e nei vitelli, ciò che li rende inetti all'ingrasso ed all'allevamento, per cui vengono sacrificati presto. Per la carne si dovranno usare le cautele innanzi indicate per la tubercolosi.

La scrofola, anche se iniziale, induce sempre nell'organismo che ne è affetto uno stato cachetico generale, una denutrizione, sempre più marcata a misura che la malattia fa progressi. La carne degli animali scrofolosi è sempre molle, imbevuta di siero, tenera, pallida, magra, e quel poco grasso che esiste è pure molle, giallognolo, tremolante, ricco di oleina e di acqua.

*Cancro.* — Può anche negli animali rivestire talora la forma discrasica generale. Nei casi di cancro localizzato la carne non offre alterazioni, meno nel punto su cui il neoplasma si adagia, e può quindi essere consumata; quando però il processo è generalizzato, per modo da aversi una vera diatesi cancerigna, allora la carne è da proscriversi affatto dal consumo.

Benchè questo caso si verifichi secondo alcuni assai di rado, tuttavia noi l'abbiamo talvolta osservato ed in animali ancora in buonissimo stato d'ingrasso. I caratteri della carne cancerigna sono i seguenti: fra le fibre muscolari si trovano ammassi più o meno grandi di una sostanza pastosa biancastra molto simile alla sostanza cerebrale. Essa non offre una forma distinta particolare, per cui tagliata la carne si manifesta come chiazzata irregolarmente, ed all'ingiro di queste chiazze le fibre muscolari han perduto il loro

normale colore e la loro consistenza, e sembrano divenute anemiche, schiacciate, atrofiche, fibrose.

Primitivamente il cancro si sviluppa spesso nel fegato dando luogo in seguito all'infezione cancerigna generale del sistema glandolare linfatico. Casi di questo genere ne abbiamo osservati anche recentemente nelle pecore e nei bovini, e la diagnosi venne confermata dai prof. Rivolta, Marchiafava, Sanfelice ed altri. Riteniamo quindi che i casi di cancro diffuso siano più frequenti di quello che si crede, forse perchè passano inosservati o non vengono ritenuti come tali.

*Vaiuolo.* — Nel vaiuolo dei suini e dei montoni, allorquando è confluyente ed esteso, le carni sono assolutamente da scartarsi, perchè in preda ad infezione generale, od alla piœmia o setticœmia consecutiva. Il vaiuolo leggero afèbrile, come pure quello delle vacche, che per lo più limitasi solo alle mammelle, non induce nella carne alterazioni di sorta, per cui in simili casi può senza inconvenienti venire mangiata. Lo stesso si dica delle vitelle adoperate per lo sviluppo e la raccolta del vaccino.

Anche i cavalli vanno soggetti al vaiuolo, il quale ordinariamente si localizza alle labbra ed alle nari, e fu confuso talvolta colla morva. Talora il vaiuolo equino attacca le estremità degli arti, ed anche in questo caso è stato confuso con un erpete particolare a cui tutti i cavalli possono andare soggetti. Non saranno ammessi alla macellazione i cavalli comunque affetti da vaiuolo, nello stadio febbrile della malattia.

Le carni degli animali morti di vaiuolo confluyente, esteso a tutto il corpo, si presentano coll'aspetto delle carni infiammate; e quindi oscure, ricche di sangue, puzzolenti, con grasso rossastro, e connettivo chiazzato di tanti punti rossicci, o rosso oscuro, per emorragie capillari avvenute entr'esso; oltre le lesioni locali vaiuolose.

Nei casi gravi, tali carni offrono anche le note indicate parlando della piœmia e della setticœmia.

*Difterite.* — Si è osservata nei vitelli giovanissimi, ma non pare abbia relazione colla difterite dell'uomo. La malattia si presenta con erosioni difteriche profonde della mucosa orale, laringea, faringea ed anche intestinale, con placche difteriche di colore bianco-sporco, elevate, resistenti, interessanti profondamente i tessuti, e con febbre elevatissima. La morte avviene, oltreechè per le lesioni locali, eziandio per intossicazione.

A dir vero, non sappiamo sino a qual punto si possono in oggi accettare i risultati degli esperimenti intesi a dimostrare la trasmissibilità di questa malattia all'uomo (Klein), e l'identità della difterite umana con quella dei vitelli; epperò preferiamo lasciare al tempo anche la soluzione del problema

rignardante la nocività delle carni degli animali differici. In ogni caso però, dato il carattere infettivo della malattia, è meglio attenersi al detto « nel dubbio astienti », e quindi le carni si devono proscrivere dal consumo.

*Tetano.* — È una malattia alla quale vanno in ispecie soggetti i cavalli ed i montoni, in seguito ordinariamente alla castrazione, ad inguinamento di piaghe, ferite, ecc.

Anche le carni contengono la relativa tossina, che però si ritiene che, come quella differica, si distrugga col calore facilmente, e per la via digerente non agisce.

Quindi gli animali affetti da tetano iniziale possono venire macellati, ammettendo le carni al consumo, nelle basse macellerie, previa eliminazione del focolaio della malattia; solo quando esistono gravi alterazioni per disturbi respiratori e circolatori, a malattia inoltrata, le carni saranno escluse, perchè eziandio sono di brutto aspetto, pregne di sangue e ripugnanti, molli, decomposte, alterate.

*Corizza gangrenosa dei bovini.* — Il consumo delle carni dei bovini affetti da corizza gangrenosa, o febbre catarrale maligna, non sarà permesso, meno di quelle provenienti da animali macellati poco dopo lo sviluppo del male, quando cioè esso è ancora localizzato, e non è avvenuta la distruzione gangrenosa dei tessuti e l'infezione generale setticoemica, e durante il periodo afebrile.

La corizza gangrenosa è malattia poco conosciuta nella sua essenza, mentre la sua gravità è tale che produce quasi sempre la morte degli animali colpiti, in pochissimo spazio di tempo. Questo fatto deve per sè esser tale, da far escludere affatto dall'alimentazione le carni degli animali morti per simile malattia, anche perchè portano i segni di profonde alterazioni avvenute nella loro consistenza, e nelle altre qualità organolettiche.

*Mal rossino dei porci.* — I maiali vanno soggetti ad una particolare malattia denominata *mal rossino*, od impropriamente, *ercisipela carbonchiosa*; dico impropriamente perchè il mal rosso non ha nulla a che fare colle affezioni carbonchiose, ed essendo invece prodotto da un batterio specifico, di cui v. a pag. 368. La carne dei maiali affetti è fortemente impregnata di sangue in forma di tante punteggiature grosse come la capoccia di uno spillo o poco più. Di tali punteggiature è pure macchiato il connettivo, il grasso interno ed il lardo, per modo da rassomigliare talora a vere petecchie.

La carne ha un odore penetrante, acido, fermentato; e, benchè in qualche caso apparentemente sembri aver conservato la naturale sua consistenza e il colore, tuttavia ben presto in contatto dell'aria oscurisce, si fa molle, pastosa, e si altera nella sua compage, per modo da riescire nociva. Infatti, in coloro che ne fecero uso smodato, abbiamo potuto verificare: febbre, dolore

di capo (cefalea), diarrea talvolta associata al vomito, ecc., sintomi però che col riposo e cura dietetica. la maggior parte delle volte scomparvero, lasciando una spossatezza per alcuni giorni.

Recentemente il Generali avrebbe pure dimostrato le notevoli proprietà attossicanti delle carni dei suini affetti da mal rossino, per cui è bene escluderle affatto dal consumo.

Taluni suggeriscono di uccidere d'urgenza e macellare i suini ammalati per utilizzare le loro carni dopo cottura, ed il grasso previa fusione; ma noi dubitiamo, in base alle osservazioni del succitato Generali e nostre, che la semplice cottura sia sufficiente a neutralizzare l'azione deleteria delle carni e del grasso; e quindi propendiamo perchè, a sensi dei regolamenti igienici vigenti, le carni di tali animali siano solo utilizzate per uso industriale.

*Setticemia e colera dei suini.* — Uguale trattamento dovranno subire le carni di altre malattie dei suini, confuse in passato col mal rossino, quali: la *setticemia* (pneumonite contagiosa), e la *peste* o *colera* (pneumoenterite contagiosa) che tanta strage menarono in questi ultimi anni, con immensi danni agli agricoltori. Anche l'ingestione di queste carni infatti sia semplicemente cotte, sia prima confezionate in salsiccie, ha dato luogo a gravissimi inconvenienti in chi ne fece uso, a vere epidemie con qualche caso di morte (Pouchet, Sibera Schmidt e Zschokke).

*Ematuria epizootica o Malaria bovina.* — È frequente nei bovini che vivono in località malariche e venne anche da Celli, da Santori e da me studiata nell'agro e nella provincia romana. Quando riveste la forma acuta, i caratteri principali sono la febbre e l'anemia dovuta questa alla distruzione dei globuli rossi per opera di uno sporozoo, il *pirosoma bigeminum*. La trasmissione avviene per mezzo delle zecche. La forma cronica è pure frequente ed è rappresentata da un tumore di milza, da ingrossamento dei gangli linfatici e da cachessia.

Le carni, tanto nella forma acuta che in quella cronica, possono ammettersi al consumo, nel primo caso se non sono febbrili e nel secondo se non esiste la cachessia.

Anche gli equini e gli ovini possono, sebbene assai più raramente, andar soggetti alla *piroplasmosi* o *malaria*, e per le loro carni il trattamento è eguale al precedente.

*Tifo bovino.* — La carne degli animali affetti da *tifo bovino*, o *peste bovina*, per se stessa è provato essere affatto inocua, mentre il trasporto di essa da una località infetta in un'altra che non lo è, può esser causa di trasmissione del terribile morbo, che in pochissimo spazio di tempo suol mietere migliaia di vittime, decimando intere mandre di bovini. Essa è trasmissibile anche alle pecore, alle capre, ai bufali ed altri animali.

Il microbo di questa malattia è invisibile (V. pag. 472): i sintomi e le alterazioni anatomico-patologiche non sono speciali ma comuni ad altre malattie e la diagnosi si fa in base al carattere eminentemente infettivo e diffusivo.

Per impedire pertanto la diffusione del tifo bovino, gli animali morti od abbattuti per tale malattia dovranno essere tosto distrutti, impedendo qualsiasi uso delle carni e delle altre spoglie.

Solo nel caso in cui la epizoozia fosse universale, si potrebbero allora utilizzare le carni consumandole nella località ove furono abbattuti gli animali, nonché le pelli, previa accurata disinfezione di quest'ultime e cottura e sterilizzazione delle prime.

*Afta epizootica.* — Gli animali affetti dall'fta epizootica (volg. *zoppina, taglione*), se macellati tosto, appena cessata la febbre, danno carni sanguinolente sì, ma atte ad annona; mentre se vengono sacrificati dopo, quando la malattia ha provocato tali alterazioni alle estremità, o internamente, da renderli inguaribili, la carne ne ha risentito gli effetti e deve perciò essere esclusa dal consumo, specie se sono sopraggiunti fenomeni di piaemia o di setticemia.

L'fta si localizza alla bocca, ai piedi ed alle mammelle, talvolta anche internamente, riuscendo allora mortale.

È un virus invisibile la causa di questa malattia che ha arrecato e reca danni immensi all'agricoltura ed all'allevamento del bestiame, ed al commercio di esso e suoi prodotti.

Numerosi esempi provano la contagiosità dell'fta epizootica dagli animali all'uomo; e forse molti casi di afezioni labiali di quest'ultimo, che colpiscono in una data località molti individui contemporaneamente, si devono ascrivere a questo fatto. Ciò essendo, è naturale che le carni degli animali aftosi potrebbero, se freschissime, essere pure esse capaci d'infettare almeno quegli individui che le maneggiano: ma ordinariamente la contagione all'uomo avviene per l'uso del latte crudo, o per il contatto diretto cogli animali malati, perchè il virus rimane localizzato nelle parti infette (bocca, mammelle e piedi) a preferenza.

La fig. 291 mostra una lingua di bue gravemente aftosa.

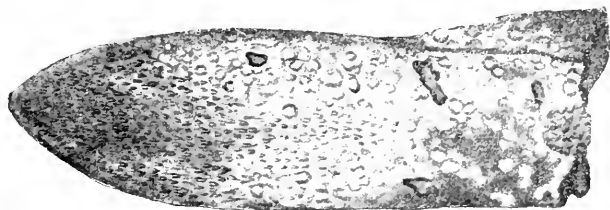


fig. 291. — Lingua di bue gravemente affetta dall'Afta epizootica (I. Nosotti) (afte ed abrasioni).

*Pleuro-polmonite contagiosa.* — Per un falso concetto fino a poco tempo addietro le carni dei bovini affetti da questa malattia, volgarmente chiamata *polmonea*, venivano sotterrate ed escluse dall'alimentazione. Ora però, levate (oltrechè dei visceri), da quella parte che può essere alterata per compartecipazione indiretta al processo polmonale (come sarebbero i muscoli pettorali e dello sterno), sono liberamente ammesse all'uso. Altre volte viene sequestrata tutta la parte anteriore del corpo, ammettendosi al consumo solo i quarti posteriori; ma sì nell'uno che nell'altro caso tali carni devono essere vendute nelle basse macellerie.

Quando però la malattia ha durato molto tempo, e le lesioni polmonali si sono fatte gravissime per modo di essere avvenuta la piemia o la setticemia, allora le carni non si devono ammettere al consumo, ma distruggerle.

Questa malattia è rappresentata da una polmonite infettiva acuta con successiva epatizzazione polmonale (epatizzazione marmoreggiata di Gerlach) e pleurite, come alla figura 292 (per l'eticologia v. pag. 472).

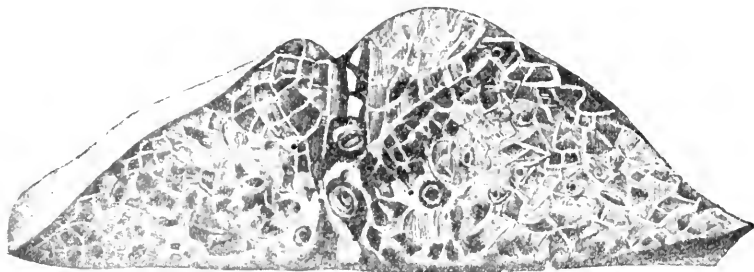


fig. 292. — Pleuro-pneumonia essudativa contagiosa (taglio trasverso del polmone).

*Actinomicosi.* — Ordinariamente localizzata al mascellare (figura 293) od alla lingua (fig. 294), può talvolta generalizzarsi e dare così luogo a neoproduzioni actinomicotiche del peritoneo, delle glandole linfatiche, del polmone, ecc., macroscopicamente confondibili con quelle della tubercolosi. Solo l'esame microscopico infatti può stabilire la diagnosi (v. pag. 21).

Se l'actinomicosi è localizzata, allora si elimina la parte affetta ed il resto dell'animale si ammette al consumo, ma se è generalizzata, allora si sequestra l'intero animale e lo si distrugge,



utilizzando il ricavo per uso industriale; ovvero si sterilizzano in qualche caso le carni eliminate dai focolai actinomicotici.

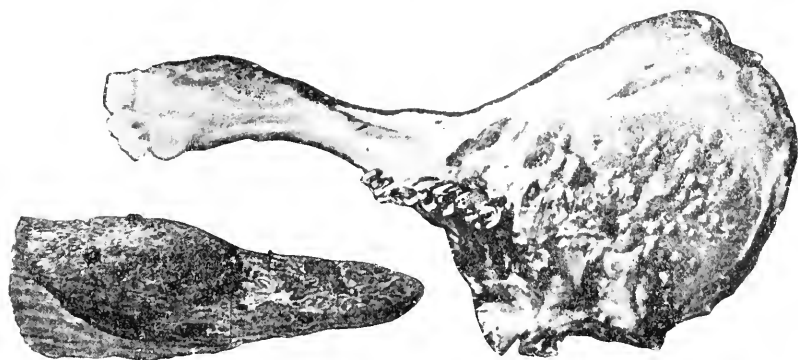


fig. 293 mascella, e fig. 294 lingua di un bovino, affette da Actinomycosi.

**MORBI PARASITARI.** — Dei parassiti delle carni è detto a pag. 23 e seg.; qui parleremo dei caratteri microscopici delle carni invase dai parassiti, e del loro trattamento, nonchè di quelle non citate nella parte microscopica di questo libro.

*Panicatura dei suini.* — Il *cisticercio della cellulosa del maiale* costituisce la cosiddetta *grandine*, *gragnuola* o *panicatura* (volgarmente *gramigna*), così frequente ad avverarsi; ed è caratterizzata dalla presenza, nei muscoli di questo animale, di particolari vescichette riempite di un liquido trasparente entro cui sta rannicchiato il cisticercio, il quale, ingerito dall'uomo, suol continuare in esso l'ulteriore suo sviluppo in verme solitario, o *tenia solium*.

La *panicatura* del porco si riconosce adunque dalla presenza nel connettivo intramuscolare, di corpicciuoli della grandezza di un seme di miglio a quella di un pisello, arrotondati od ellittici, semi-trasparenti, bianchicci o giallicci, talvolta duri alquanto al tatto, sparsi in ispecie nei muscoli ascellari, sotto-scapolari, olecranici, del collo, della coscia, della lingua, sotto-lombari, e perfino nel miocardio, sulle sierose, nel fegato, nei polmoni, nel cervello, nell'interno degli occhi, ecc.

Il loro numero è talora sì grande, ch'essi sono quasi a contatto fra di loro, ed i muscoli ne sono addirittura infarciti (fig. 295). Le cisti stanno in una membrana avventizia, se fra le fibre muscolari. Talora nel tagliare i muscoli così affetti, i corpicciuoli cadono, o vengono levati ad arte, ma al loro posto ci resta un vuoto, la pie-

cola nicchia, riflettente la forma primitiva degli stessi, che mette in guardia chi le osserva, per modo da consigliare ulteriori tagli nei muscoli.



fig. 295. — Panicatura suina grave (I. Nosotti).

Si distingue una *panicatura leggera* ed una *panicatura grave*, basata sulla quantità maggiore o minore di cisticerchi nei muscoli. In questo secondo caso, per lo sfiancamento delle fibre, avvenuto per la presenza fra loro del cisticerco, i muscoli si mostrano di una tessitura come lassa, facilmente sibrabile, di maniera che, anche senza la presenza dei cisticerchi sulla superficie, il provetto esaminatore ne sospetta almeno l'esistenza ed eseguisce dei tagli per assicurarsene. Per l'esame microscopico delle carni panicate fresche o conservate v. pag. 15 e seg.

Per ben comprendere il danno di una carne panicata bisogna ricordarsi l'evoluzione dei vermi cestoidi, ed in particolare quella delle tenie.

L'esistenza di questi vermi comprende due periodi ben distinti. Nel primo, che comincia con la nascita degli embrioni, il verme vive allo stato di larva, di cisticerco, incistato nello spessore dei muscoli di un animale (porco), fino a che per una felice combinazione la carne di questo animale serve all'alimentazione di un animale di specie diversa (uomo), ma ben determinata per ciascuna tenia. Allora sotto l'influenza della digestione, il cisticerco viene isolato, la sua membrana cistica disciolta, e, se il terreno è favorevole, lo scollice si attacca alla mucosa e colle ventose succhianti si nutrice, si sviluppa e si trasforma in verme perfetto, in tenia.

Prendendo per termine di paragone la *tenia solium*, si può dire che la sua evoluzione è compresa in un ciclo molto regolare ed indefinito. La carne di porco panicata mangiata dall'uomo dà origine alla *tenia solium*: le proglottidi distaccate dalla tenia, le uova contenute nell'ovidutto di ciascuna

proglottide, ingerite dal porco, danno nascita agli embrioni, che penetrano fin nello spessore dei muscoli, si incistano sotto forma di cisticerco (*c. celulosae*) costituendo la *panicatura* del porco; e così di seguito.

In altri termini: se l'uomo contrae il verme solitario per l'ingestione della carne di porco panicata; il porco, d'altra parte, diviene alla sua volta panicato per l'ingestione delle proglottidi, o delle uova, della *tenia solium* emesse dall'uomo cogli escrementi.

Il trattamento da adottarsi per le carni paniccate del maiale, è stabilito in Italia da speciali disposizioni regolamentari, che si riducono poi alle seguenti misure:

1° quando le carni sono molto paniccate, contengono cioè numerosissimi cisticerchi ed hanno indotto una vera cachessia (*panicatura grave*), allora si devono distruggere, ovvero, sotto speciale sorveglianza, destinare per uso industriale, ricavandone quanto grasso si può per farne del sapone:

2° quando invece la carne è poco tempestate dai cisticerchi (*panicatura leggera*), allora se ne permette il consumo previa cottura, ovvero purchè venga tagliuzzata in minuti pezzi, insaccata in forme piccole, di cinque centimetri di diametro, e, dopo subita la salagione, fatta cuocere. I lardi, che possono pure contenere cisticerchi, massime se intersecati di muscoli, vengono salati, e dopo tre mesi ammessi al consumo. Il grasso è fatto fondere.

Alcune città derogarono da tali assemmate prescrizioni e permisero che i salami di carni paniccate si potessero fare in forme grosse, con grave pericolo della pubblica salute; inquantochè è notorio, che colla cottura ordinaria, comunemente in uso, il calorico non può penetrare sin nel centro di tali forme, ed avervi quindi la sicurezza che il cisticerco venga ucciso. Ciò tanto più, se i salami grossi vengono messi a cuocere nell'acqua già bollente, nel qual caso la coagulazione rapida, istantanea dell'albumina della loro superficie esterna, impedisce l'ulteriore passaggio nel loro interno del calore sufficiente per accertare la morte del parassita, e che ritienesi in generale essere di 50° a 60° C.

*Panicatura dei bovini.* — Il cisticerco della *tenia medio-canellata* dell'uomo, costituisce la *panicatura dei bovini*, e subisce tutte le fasi indicate precedentemente, colla differenza però che il cisticerco alligna nei muscoli dei bovini, e nel corpo umano alberga nell'intestino in forma di verme perfetto, di *tenia medio-canellata*. I muscoli più affetti sono il diaframma (fig. 296) e il cuore (fig. 297).

La panicatura dei bovini non è così frequente come quella del maiale, e noi l'abbiamo osservata nel 1884 per la prima volta nei



fig. 296. — Cisticerchi della parte muscolare del diaframma di un bovino.

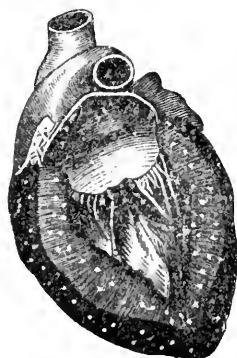


fig. 297. — Sezione del cuore di un vitello con moltissimi cisticerchi.

muscoli del collo di una vacca; però, malgrado il più accurato esame possibile, non ci fu dato di riscontrare che 4 o 5 esemplari, la di cui essenza venne confermata dall'esame microscopico.

Numerosi furono gli esperimenti fatti per provocare la panicatura nel vitello, facendogli ingerire delle proglottidi della tenia inermis o medio cancellata eliminate dall'uomo; e in quelli ben riusciti, il cuore ed il diaframma in specie erano tempestati da cisticerchi. La panicatura dei bovini è più frequente di quel che si crede; infatti dopo che io misi l'obbligo di esaminare, spaccandoli, tutti i cuori dei bovini mattati a Roma, i casi di panicatura si riscontrarono più frequentemente. Il trattamento delle carni è come pei suini, distinguendosi pure nei bovini una panicatura *grave* ed una *leggera*.

*Trichina spiralis*. — È un piccolo verme nematode, avvolto a spira nell'interno d'una cisti, albergante nei muscoli del solo porco, fra gli animali da macello e determinante in questi, e nell'uomo che si ciba di carni trichinate, la cosiddetta *Trichinosis* o *Trichiniasi*, sotto le due forme: intestinale e muscolare.

La trichina è un verme cilindrico, filiforme, non visibile ad occhio nudo; il suo corpo va gradatamente assottigliandosi dalla metà in avanti, e nel maschio ha la lunghezza di mm. 1,50 in media per mm. 0,04, e nella femmina di 9 a 4 mm. per mm. 0,09;

esso è sodo, omogeneo, trasparente, retato trasversalmente ed offre nei due sessi forme distinte.

Le trichine si riscontrano fra le fibre muscolari come nell'interno delle medesime, in entrambi i casi dapprima sono libere indi si incistidano. Le cisti sono ovoidi od ellittiche, a pareti trasparenti, se di data recente, opache ed incrostate di sali calcarei se di antica data. Talora fra i due poli delle predette cisti, si riscontrano cellule o goccioline di grasso (v. pag. 27).

Nei casi in cui la carne è fortemente trichinata, è solo dato presagire ad occhio nudo la presenza delle trichine, perchè si mostra seminata in un'infinità di piccoli rigonfiamenti, in ispecie se le trichine sono calcificate.

Abbiamo detto che le trichine si trovano o nel connettivo intramuscolare, o nell'interno delle fibre: nel primo caso le fibre muscolari si atrofizzano per la compressione meccanica della cisti: nel secondo caso, dapprima si conservano intatte, ma ben tosto per la presenza del parassita subiscono delle profonde alterazioni; la sostanza fibrillare si riduce in una massa finamente granulosa, nella quale si possono distinguere ancora i nuclei muscolari in istato di divisione; la fibrilla stessa è convertita in una specie di otricolo le cui pareti sono fatte dal sarcolemma, e sotto al campo del microscopio appare come scriccia oscura e granulosa il cui contenuto, quando si rompe l'otricolo, esce fuori sotto forma di una colonna granulosa, talvolta insieme alla trichina. Questa si riveste in seguito di una parete, si attorciglia gradatamente su se stessa a spirale; la parete si raggrinza, e si arrotonda, si riveste ai suoi poli di cellule di grasso e di sali di calce, prendendo un colorito bianco giallastro; sicchè è meno difficile allora constatare, anche senza l'aiuto di microscopio, la presenza di siffatti corpi estranei nei muscoli. La calcificazione della capsula cominciata ai poli, gradatamente ne invade l'intera parete, e le trichine così incistidate vivono degli anni in mezzo ai muscoli.

L'ingestione della carne di porco affetto di trichinosi può determinare nell'uomo l'istessa malattia, con gravi conseguenze, e qualche volta la morte. Se ne comprende la gravità quando si riflette che, secondo gli studi di Colin, un chilogramma di carne di porco trichinato contiene fino a 5 milioni di trichine incistidate, di cui ognuna, introdotta nel tubo digerente, vi si sviluppa, viene fecondata, e produce, dopo 5 o 6 giorni, più di 100 embrioni, che perforano la mucosa intestinale, penetrano nell'interno dei capillari, e per mezzo della corrente sanguigna si portano nello spessore dei muscoli, ove si arrestano, si scavano una piccola buca e s'incistidano; restando così inerti fino a che troveranno un mezzo facile per l'evoluzione della seconda parte della loro esistenza.

Fortunatamente da noi la trichina nel maiale non si avvera mai, mentre in Germania od in alcune località d'America inferisce tanto in questo animale e nell'uomo da rivestire in qualche luogo una vera forma endemica.

Si vorrebbe che i topi, i porci, i conigli, il cane ed il gatto, in cui la trichinosi pure si verifica, siano quelli che alimentano la sorgente continua di sviluppo della terribile malattia nel maiale, e da questo all'uomo.

Dopo tutto quanto si è detto, è naturale che qualunque specie di carne trichinata deve essere rigorosamente eliminata dalla consumazione, e che le ricerche, di cui abbiamo indicato il procedimento, devono essere moltiplicate soprattutto là dove la trichinosi esiste, o si è già mostrata. In questi luoghi appunto bisogna rigorosamente astenersi dal consumare carne di porco cruda od imperfettamente cotta; la cottura dev'essere prolungata fino a che tutto lo spessore del pezzo di carne abbia acquistato una colorazione grigia, e che il sugo che cola dalla sezione della carne abbia perduto qualunque riflesso rossastro. Solamente a questa condizione le trichine, che per caso potrebbero essere fuggite all'esame, si possono ritenere distrutte.

*Echinococchi.* — Sono frequenti nel fegato e polmoni, ma possono trovarsi in tutte le parti dell'organismo compreso le ossa.

Si distinguono in cisti di echinococco con teste ed acefalocisti o senza teste; quest'ultime sono sterili e si trovano più frequentemente nei bovini, mentre le prime si riscontrano nei suini. Esse subiscono delle metamorfosi degenerative, la parte liquida viene assorbita e la membrana elmintica subisce la degenerazione caseosa. In questi casi, quando hanno sede nel fegato o nel polmone, la lesione può essere confusa colla tubercolosi (v. pag. 25).

Le cisti sono della grossezza della testa di uno spillo a quella di un fanciullo, e, fatta eccezione dell'atrofia per compressione

meccanica, non provocano altre alterazioni nei tessuti in cui si sviluppano. Basta pertanto levare le cisti, quando sono in piccolo numero ed evidentissime, ammettendo il resto al consumo.

*Cenuro cerebrale.* —

È una vescicola ripiena di un liquido chiaro della grossezza di un pisello ad un novo di pollo (fig. 298) che si trova nel cervello e nel midollo spinale special-

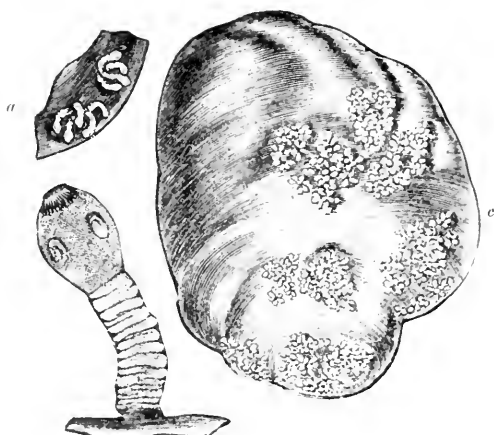


fig. 298. — a e b. teste di cenuro cerebrale  
c. cisti a vescicola.

mente dei giovani bovini e delle pecore (v. pag. 26).

Gli animali affetti vanno soggetti ad accessi pericolosi di vertigine e devono essere sacrificati pel macello, con danno della produzione e dell'allevamento di simile bestiame, ad impedire il quale danno occorre che il cervello ed il midollo infesti da cenuro siano sempre distrutti, e non dati ai cani, come stupidamente si usa mantenendo il ciclo del parassita che è però innocuo all'uomo.

*Balbiana gigantea*. — Ha la sua sede prediletta nella muscolare dell'esofago dei bufalini, dei bovini e degli ovini che vivono in località paludose, e si presenta sotto forma di macchie biancastre della grossezza di una grana di riso a quella di un piccolo fagiuolo. Sono sporocisti contenenti colonie di psorospermi, la *balbiana gigantea*, e si possono trovare anche negli altri muscoli ed organi del corpo. Non si conosce bene l'intero ciclo, ma per ciò che riguarda le carni è bene eliminare dal consumo le parti infeste dal parassita.

*Psorospermosi o malattia da psorospermi*: venne osservata nel bue, nella pecora, nel porco, e nel cavallo, ed è rappresentata dalla presenza nei muscoli di particolari corpi parassitari denominati *corpuscoli reniformi*, *corpuscoli del Rainey*, od *otriculi del Miescher*. Ad occhio nudo hanno l'aspetto di piccoli corpi filiformi, biancastri, gracilissimi, al punto che non si scorgono se non dietro scrupolosa attenzione. Nei casi gravi però il tessuto muscolare è come crivellato di granulazioni fusiiformi, giallastre, della grossezza di una testa di spillo, soventi disposte in serie lungo l'asse delle fibre muscolari (fig. 299).

La presenza dei psorospermi fra le fibre muscolari, provoca una miosite interstiziale, e l'atrofia, la completa scomparsa cioè di esse fibre, inquantochè a poco a poco ne occupano il posto. L'infiammazione si manifesta da principio colla produzione di un ascesso microscopico, di una infiltrazione di leucociti

che si aggruppano formando una corona regolare più o meno spessa; poi incomincia la proliferazione degli elementi muscolari che dà luogo ad una formazione nodulare, la quale nei tratti principali piglia il carattere d'una granulazione tubercolare, come erroneamente da taluni viene anche presa.

Le carni offrenti le alterazioni descritte, non sono direttamente nocive, non essendosi almeno sin ora segnalati accidenti consecutivi al loro uso; però esse hanno perduto una gran parte delle loro proprietà alibili, sia perchè gli elementi muscolari sono notevolmente atrofizzati, sia perchè al loro posto si

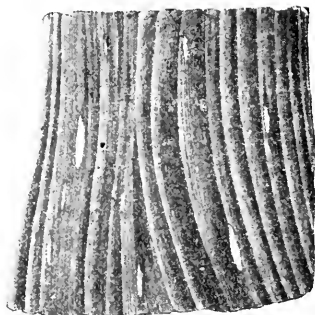


fig. 299. — Muscolo con sarcosporidi (Otricoli del Miescher).

trovano le granulazioni in modo considerevole, potendosi contare perfino 10 a 12 in un campo microscopico.

A completare i morbi parassitari resterebbe a parlare dell'*elmintiasi intestinale*, della *bronchite e polmonite verminosa*, ecc., ma non provocando queste lesioni alterazioni tali nelle carni, da doverle proscrivere da alimentazione, rimandiamo il lettore ai trattati particolari, ed alla pag. 25.

Per altro non passeremo sotto silenzio le osservazioni recenti che riguardano alcuni parassiti riscontrati nelle carni, quali: il *pentastoma tenioides*, il *parassita di M. Poincaré*, il *parassita del Dunker*, il *distoma della carne*.

*Pentastoma tenioides*. — Allo stato adulto è stato trovato nei seni frontali, nelle cavità nasali e nella faringe del cane e degli equini. Allo stato di larva ha un corpo biancastro più largo anteriormente, formato di anelli forniti di aculei, e venne trovata incistata sotto il peritoneo e sotto le pleure dell'uomo, della capra e

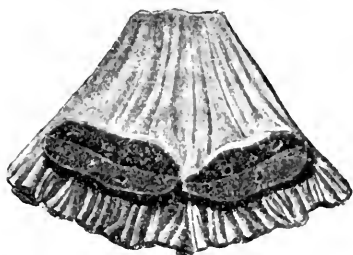


fig. 300. — Glandule mesenteriche infeste da larve di *Pentastoma tenioides*.

del bue, nonché nel fegato e nei gangli mesenterici. In quest'ultimi la larva perisce, lasciando dei focolai simili a quelli della tubercolosi (fig. 300) dalla quale si distingue soltanto coll'esame microscopico, riscontrando il parassita o qualche parte di esso, o diversamente i bacilli tubercolosi.

*Parassita di M. Poincaré*. — Nella carne degli animali da macello, Poincaré ha trovato delle

speciali neoformazioni riguardate da lui come parassiti; nel mentre effettivamente non si sa ancora se rappresentino germi di elminti, o esseri affini alle gregarine.

Il parassita di Poincaré è cilindrico, e termina alle due estremità in forma di cono, di cui una è sempre più larga dell'altra; esso presenta delle striature longitudinali ed oblique, le quali circoscrivono delle larghe cellule. Il preteso parassita ha la larghezza di 0,05 mm. e una lunghezza di 0,28, e si mostra finamente granuloso, e talmente immedesimato colle fibre muscolari che, a bella prima, sembra occupare la cavità sarcolemmica, mentre isolandolo se ne vede chiaramente la sua indipendenza.

Solo ulteriori accurate osservazioni potranno decidere dell'importanza di questo ritrovato, rispettivamente a quanto spetta per l'igiene annonaria.

*Parassita del Dunker*. — È noto che nelle carni suine frequentemente rinvengonsi delle concrezioni calcaree: orbene, il Dunker

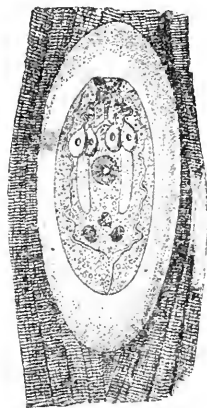


in queste concrezioni trovò dei parassiti vegetali che qualificò per *actinomices*. Questi noduli, che ad occhio nudo rassomigliano molto alle trichine calcificate, affettano di preferenza il miocardio, seguendo il decorso delle fibre muscolari.

Se si esamina al microscopio la carne infetta da siffatte concrezioni, si vede che, accanto alle fibre muscolari rimaste perfettamente normali, se ne trovano altre che hanno acquistato un color rosso-bruno sporeo; ed in queste ultime, ad irregolare distanza, dei corpi arrotondati separati fra loro da strati di granuli finissimi rassomiglianti ai micrococchi. I corpi, o parassiti, hanno una struttura raggiata, e si colorano fortemente in rosso colla cociniglia.

Secondo Johnes, essi non possono essere actinomices: 1° perchè nel tessuto circostante al fungo manca ogni traccia di reazione infiammatoria; 2° perchè il fungo non ha la forma globosa, ma discoide; 3° infine, perchè i filamenti micelici non finiscono alla loro estremità in forma di clava e non posseggono la particolare lucentezza dell'actinomices. Virchow invece associandosi all'opinione di Dunker ritiene il fungo in parola, come actinomices calcificato.

*Distoma della carne.* — Nella carne di porco è stato scoperto un altro parassita, cioè un piccolo distoma che si può scorgere soltanto coll'aiuto del microscopio (v. pag. 29). Esso ha l'apparenza esterna non molto dissimile dal distoma che comunemente suol albergare nel fegato (fig. 301), e però la sua presenza nella carne del porco sembra affatto accidentale, e si osserva di rado. L'uso di questa carne pare sia del tutto innocuo, e noi che abbiamo visto accidentalmente il distoma epatico nei bronchi ed in altri siti, riteniamo non si debba dare grande importanza anche al distoma nella carne, meno nel caso in cui la tempesti per modo da alterarne le qualità nutritive, sostituendosi alle fibre muscolari.



Il distoma della carne fu scoperto da Leunis, ed in seguito è stato trovato nelle carni suine da Dunker, da Richter, e da molti altri. Esso predilige i muscoli del laringe ed i pilastri carnosì del diaframma.

Il verme ha la forma e la grandezza di una capsula di trichina, è di color grigio, ed è fornito nell'estremità anteriore di una ventosa o poro succhiante, dal quale prende origine l'esofago muscoloso che termina in fondi ciechi contrattili. Il poro ventrale è posto nel mezzo della superficie del corpo, immediatamente dietro ove si dividono in due fondi ciechi. Lateral-

mente ad ogni fondo cieco vi sono due grandi cellule ghiandolari. Se i canali sieno dotti escretori di queste cellule ghiandolari, non è ancora deciso. Sulla parte posteriore più larga del corpo vi sono due vescicole contrattili, le quali stanno in connessione con un sistema di vasi sierosi.

### Alterazioni dei visceri ed organi.

Degli animali da macello, oltre la carne propriamente detta, vengono utilizzati anche tutti i visceri ed organi, formando anzi la maggior parte di essi l'alimentazione carnea del ceto meno abiente. Il parlar di questi è cosa adunque più che utile, necessaria; anche pel fatto che tutte le malattie, meno le infettive che per lo più affettano il sangue, primitivamente hanno la loro sede negli organi e nei visceri, e per l'uso che di essi se ne fa ora in medicina (Opoterapia).

FEGATO. — Il fegato viene utilizzato e ricercato in sommo grado, sia perchè offre a modico prezzo un alimento gradito, sia perchè si sa molto nutriente; tuttavia esso è meno digeribile della carne.

Il fegato sano è di colore bruno-cioccolatte, leggermente violetto, ovvero giallognolo con tinta sub-itterica, se appartenente ad un animale molto grasso, causa l'infiltrazione adiposa: la sua consistenza è soda, pastosa, e tagliato lascia sgorgare del sangue liquido od appena grumato, lasciando vedere beanti i vasi tagliati e le aperture dei canali epatici; nonchè una bella granulazione, uniforme, gremollata, pei distinti suoi acini. Il suo odore è gradevole, fresco, simile a quello del sangue, ma un po' più penetrante.

Il fegato, siccome organo ricco di vasi e di sangue, suol alterarsi, decomorsi, colla massima facilità; specie se ha subito delle alterazioni nella sua compagine, o semplicemente delle congestioni durante l'animale in vita. In questo caso acquista un colore più carico, bruno-scuro, con sfumature verdastre; perde la sua naturale consistenza, per cui alla pressione esercitata colle dita si spappola con facilità; al taglio è manifesta la separazione avvenuta della parte coagulabile del sangue in grumi, dalla parte non coagulabile, liquida. In pari tempo il fegato acquista un odore ammoniacale molto pronunciato, e di acido coleico, e talvolta, nei vitelli giovani, un odore urinoso.

Il fegato può riescire improprio all'alimentazione dell'uomo, perchè invaso molto dal *distoma epatico*, dal *lanccolato*, dagli *echinococchi*.

Il fegato può essere ancora alterato per l'*itterizia epatogena*, per la cosiddetta *cirrosi epatica*, nel qual ultimo caso essendosi sostit-

tuito al tessuto epatico il connettivale, riesce durissimo, fighioso, poco nutritivo, indigesto. Nelle febbri infettive acute, il fegato, mentre se fresco sembra solo impregnato di sangue più del normale, in breve tempo però acquista tale mollezza da ridursi in una vera poltiglia: e fatto cuocere col burro, o col grasso, si trasforma e si divide in due parti, di cui una ha le sembianze del sangue cotto, raggrumato, l'altra è liquida, acquosa; entrambe si presentano di cattivo aspetto, insipide, disagiati e tali, da non potersi con quieto animo mangiarsi. Noi abbiamo avuto campo di osservare queste alterazioni in seguito a contestazioni avvenute fra consumatore e macellai; alterazioni che possono verificarsi anche quando il fegato è *stantio*, in particolare nella stagione calda.

Infine, nel fegato possono riscontrarsi varie neoplasie, e cioè il *canero*, il *sarcoma*, i *noduli actinomicotici*, *tubercolari* o *mocciosi*, o *masse caseose*, *raccolte di pus*, ecc.; che in tutti i casi lo devono far escludere dal consumo, avendo non solo perduto le sue proprietà alimentari, ma ancora acquistatene delle nocive o anche deleterie.

MILZA. — La milza sana dev'essere liscia, appiattita, rosso-pallida o leggermente bruno-fosca, a superficie lievemente granulosa al di sotto della sottile capsula, da cui trasparire devono le intersecazioni proprie, interne della tunica fibrosa. Essa ordinariamente è molle, cedevole facilmente alla pressione delle dita di cui talora ne conserva l'impronta; tagliata lascia vedere una superficie retiforme a fine maglia, ricchissima in sangue, contenuto fra le miriadi di trabecole connettivali, e pronto ad alterarsi sotto le influenze ordinarie dell'atmosfera.

Se appartenente ad un animale carbonchioso, la milza ha un volume doppio e perfino sestuplo del normale, ed allora presenta qua e là delle bozze, delle elevazioni ricche di sangue nerastro; l'intera superficie ha colore violaceo carico, vivissimo, sotto forma di chiazze ed arborizzazioni, con tinta sfumante, risplendente, e di un colore bruno-verdastro, i bordi sono arrotondati.

Alla superficie, od anche all'interno della milza, si possono trovare anche *tubercoli*, *noduli mocciosi*, *tumori cancerigni*, *angiomi* *suppurazioni* più o meno estese, *cisti di echinococco*, che in ogni singolo caso la devono far escludere dall'alimentazione. Negli animali che vivono in località malariche si riscontra sovente un tumore di milza coll'ingrossamento delle glandole linfatiche.

Questo tumore di milza raggiunge proporzioni enormi, e la milza, allora, pesa 6 o 7 kg. Io richiamai l'attenzione sino dal 1890

su questo reperto anatomo-patologico, la di cui patogenesi definitiva deve essere ancora studiata.

**PANCREAS.** — Il pancreas è di una delicatezza e di sapore molto prelibato, per cui viene richiesto in ispecie per gli stomachi deboli, essendo anche nutriente e facilmente digeribile. Le alterazioni sue sono poche e rare, per lo più conseguono alle affezioni lente e croniche dei visceri addominali. In un bue ben nutrito, ed in una vacca, abbiamo osservato la calcolosi del pancreas estesa a quasi tutto l'organo; ed i calcoli bianco-lucenti, bellissimi, di forma poliedrica per la maggior parte, erano costituiti di purissimo carbonato di calce. Il pancreas in questi casi, oltre l'atrofia per compressione meccanica, non presentava altra alterazione, per cui era pressochè normale nella sua costituzione anatomica. Nel pancreas si possono riscontrare ascessi, tubercoli e noduli mocciosi.

La delicata struttura del pancreas fa sì che si alteri con grande facilità decomponendosi: ed allora divien tenerissimo, pastoso, di cattivo aspetto, con odore disagreevole, e che ricorda quello del latte inacidito.

**RENI.** — I reni normali sono di colore rosso-bruno-caffè, consistenti, di odore fresco leggermente urinoso. Essi sono molto usati nell'alimentazione, e però mentre nella prima età degli animali sono quasi sempre sani, nell'età adulta difficilmente si trovano immuni da lesioni, quali: *nefrite, tubercoli, noduli mocciosi, ascessi, parassiti, cancri, calcoli, cisti sierose* od *urinifere* che li fanno escludere dal consumo, comprovando in pari tempo l'opinione di quelli che li ritengono organi depuratori del sangue, od eliminatori delle sostanze e prodotti patologici inetti all'organismo.

In tutti questi casi i reni han perduto il loro colore normale essendo diventati ordinariamente più oscuri o più pallidi; come pure la loro consistenza per essere divenuti duri, fibrosi; o viceversa, molli, friabili, bitorzolati, atrofizzati o ipertrofici di odore urinoso marcantissimo, ecc.

**CAPSULE SURRENALI.** — Le capsule surrenali o *reni sucenturiati* sono due piccoli organi situati vicino al polo superiore dei reni. La loro funzione non è ancora ben nota: dai più recenti studii parrebbe che fossero capaci di produrre e versare in circolo una sostanza che agisce sulle fibre muscolari liscie ed è indispensabile per la vita: probabilmente esse esercitano anche un'azione anti-tossica. Sono frequente sede di tumori di natura cancerigna e talora di processi tubercolari. Comunque sia, è bene eliminarle tutte le volte che non si presentano affatto normali.

**STOMACI.** — Gli stomaci, specie quelli dei ruminanti, vengono copiosamente consumati dall'uomo sotto forma della cosiddetta *busecca*, *trippa*, *fogliolo* (terzo ventricolo dei ruminanti). Allorquando sono sani questi visceri, ripuliti del contenuto, si devono presentare d'un colore bianco perlaceo, d'un odore fresco, senza macchie o tracce di sangue, nè lesioni di continuo, piuttosto duri e resistenti al tatto.

In seguito al *tifo*, a *gastriti gravi*, a *cancro*, a *tubercolosi*, gli stomaci si mostrano depilati, assottigliati nelle loro pareti, o con ulcerazioni più o meno estese e profonde, o perforazioni: ovvero ispessiti qua e là con produzioni, elevatèzze di varia grandezza e forma, che consigliano di non usarli per annona.

**INTESTINI.** — Gli intestini dei vitelli vengono usati come trippa, quelli di maiali, dei grossi bovini e di cavallo per insaccare la carne, tagliata ed impastata, e farne salami. I trippai o lavoratori di tali visceri usano spesso trar profitto anche degli intestini con *ulceri follicolari*, o *tubercolari*, con *ispessimento per cancerosi*, ed altre lesioni che comunque possono riescire nocive, trasmettendo alle carni che son destinati a contenere qualità improprie, e dannose alla salute.

**GLANDULE MESENERICHE.** — Le glandule mesenteriche (come pure tutte le *glandule linfatiche* del corpo), che nel vitello e nell'agnello vengono chiamate *animelle* e costituiscono l'alimento più indicato pei malati gravi per la facilità con cui vengono digerite, possono subire gravi alterazioni in seguito a *tubercolosi*, a *scrofula*, a *cancro*, che le fanno ingrossare e rammollire, rendendole ingodibili e pericolose. Si trovano frequentemente ingrossate e rossastre nel loro interno, altre volte molli e pallide, negli animali bradi pascolanti in località umide, pantanose, malariche.

**CUORE.** — Il cuore sano è di un bel colore bruno-cioccolato, duro e resistente al tatto; le sue orecchiette ed i suoi ventricoli, se non vennero aperti, contengono del sangue raggrumato, levato il quale, le loro pareti interne si mostrano lisce, levigate, quasi lucenti. Ha fibre grossolane, e poco digeribili.

Le lesioni del cuore si riducono all'augmentato o diminuito suo volume, ciò che nulla o poco toglie alle sue qualità annonarie; altre volte invece esso trovasi invaso da *cisticerchi*, *cisti*, *echinococchi*, *ecchimosi* (carbonchio), oppure da *neoplasie cancerique* o

*tubercolari*, ed allora fa d'uopo distruggerlo per impedire danni in chi ne farebbe uso, o è infine frequentemente in preda alla *degenerazione grassosa*.

**POLMONI.** — I polmoni (volg. *corada* o *coratella*) vengono utilizzati sia fritti col burro, sia per condire l'ordinaria minestra. Essi se sani devono essere di un bel colore roseo, elastici, facilmente insufflabili in tutti i punti, soffici alla pressione, madreperlacei, come quadrettati, per le tracce dei grossi tramezzi lobulari. All'aria si disseccano ed anneriscono, si accaseiano, avendo perduta la loro elasticità, prendono un colore oscuro, cinereo, indigialastro, verdognolo, sporcio; e col tempo, per l'iniziata putrefazione loro, tramandano un odore penetrante, insopportabile. Molteplici sono le alterazioni a cui soggiacciono i polmoni, epperò nel maggior numero dei casi, comunque appena alterati, devono essere proscritti dal consumo. La più grave e la più frequente alterazione, ed anche la più temibile, è quella provocata dalla presenza in essa dei *tubercoli*, in qualsiasi stadio di tubercolosi.

Questa alterazione si presenta sotto l'aspetto di particolari neoplasie o noduli di forma variabile, interessanti l'interno del polmone o la superficie, della grossezza di un grano miliare a quella di un pisello e più, isolati o riuniti a grappolo, o ad ammassi poliposi, di colorazione rossastra sbiadita o giallobrunastra, di consistenza variabile, talora molli, caseosi, tal'altra duri, calcarei. La quantità di questi tubercoli può esser tale da dare ai polmoni un peso enorme di parecchi chilogrammi. Talvolta per la fusione o distruzione di questi tubercoli nei polmoni si riscontrano più o meno vaste cavità, dette *carerne*, riempite di un materiale caseoso, e rivestite da una robusta parete di connettivo che le isola dal restante polmone, ovvero son messe in comunicazione coll'esterno mercè i bronchi.

Nei polmoni si può riscontrare anche le note del *cancro*, della *pulmonite*, della *pleuro-pneumonite essudativa*, i *noduli mocciosi*, i *distomi*, i *cisticerchi*, gli *echinococchi*, le *larve degli strongili*, della *filaria bronchialis*, ed altri parassiti ancora.

**CERVELLO E MIDOLLO SPINALE.** — Il cervello ed il midollo spinale (volg. *cervella* e *filetto*) formano il piatto prelibato dei ricchi ed il più indicato pei malati, grazie al loro potere eminentemente nutritivo associato alla grande facilità con cui vengono digeriti. Essi però si alterano molto prestamente per le influenze atmosferiche, ed allora rammolliscono vieppiù, diventano poltacei, attaccaticci, di odore penetrante, disgustoso ed indigesti.

Il cervello e il midollo spinale devono le loro proprietà nutritive principalmente alla forte proporzione d'acido fosforico che contengono.

Le *infiammazioni*, il *rammollimento*, le *neoplasie cancerigine e tubercolari*, nonché la presenza di parassiti quali *cisticerchi*, e nei bovini frequentemente il *cenuro cerebrale*, inducono nel cervello e nel midollo spinale qualità nocive.

**TIMO.** — La glandula timo (volg. *lacetto*, *animella*) si trova nei giovani bovini appaiata lungo la faccia inferiore della trachea all'entrata del torace; ed è costituita normalmente da due lobi di colore biancastro sporeo, a superficie leggermente globosa, accollati l'uno all'altro, di consistenza elastica, di odore fresco, aggradevole: coll'ulteriore sviluppo dell'animale scompare. Sebbene raramente, talvolta la glandula timo perdura per tutta la vita dell'animale. Così in un muletto di due anni e mezzo ho riscontrato con mia sorpresa la presenza di due glandule timo di costituzione perfettamente analoga a quella dei vitelli, tanto macro che microscopicamente. Benchè la glandula timo entri comunemente a formare il piatto squisito denominato *minuta*, bisogna badare che sia fresca e perfettamente sana, essendo facilmente alterabile, per la delicata sua costituzione, sotto l'azione in ispecie degli agenti esterni, nel qual caso mostrasi molle, friabile, attaccaticcia, puzzolente e spapolata.

**DIAFRAMMA.** — Il diaframma, ossia quel sepimento che divide la cavità del torace da quella addominale, offre la struttura della carne muscolare, e quindi viene usato come essa. Potendo partecipare tanto alle alterazioni dei visceri dell'una come dell'altra cavità, trovasi spesso alterato per *tubercolosi*, *cancro*, *imbibizione sierosa*, od è sede di *cisticerchi*.

**TESTICOLI.** — I testicoli, allorchè non vengono levati nell'animale in vita colla castrazione, si utilizzano come le altre glandole, costituendo un cibo delicato e nutriente. Ciò, però, allora quando appartengono ad animali macellati in giovane età e non sono in preda ad alterazioni: quali *sarcoma*, *cancro*, *tubercolo*, *orchite*, *suppurazioni*, ecc.

**MAMMELLE.** — Le mammelle sane si mostrano di un colorito bianco paglierino o giallastro, di consistenza pastosa, elastica, uniforme in tutta la superficie dell'organo, ed allora sono un buon alimento, di cui fa uso in ispecie il povero. Disgraziatamente

però, queste glandule si trovano spessissimo alterate per *mastiti*, *scirro*, *canero*, *sarcoma*, *suppurazioni ed anche tubercoli*, i quali ultimi hanno la loro sede nel connettivo peri ed intra-glandulare dapprima, e più tardi anche negli acini, come noi da tempo abbiamo constatato. In ogni singolo caso, comunque l'alterazione invada più o meno estesamente la mammella, questa dovrà essere per intero distrutta.

UTERO. — Anche l'utero, se non gravido, si utilizza come la *busecca* o trippa. Taluni speculatori cercano di trar profitto anche dell'utero appartenente a femmine statè macellate gravide, e non mancano coloro che vanno ghiotti pei cosiddetti *cotiledoni*; ma è bene però sorvegliare attentamente questo organo, essendo spesso la sede di *neoplasmi* (canero, sarcomi, di *tubercolosi*, di *infiammazioni specifiche acute o croniche*, avvenute in seguito a parto; alterazioni tutte che possono provocare, in chi ne faccia uso, vomito, diarrea, talora con affievolimento consecutivo delle forze.

OVAIE. — Le ovaie vengono per lo più gettate via e raramente consumate, epperò se provenienti da femmine vecchie presentano lesioni varie da escludersi dall'annona; e più sovente presentano *cisti* multiple voluminose, *sarcomi*, *cancri* di grossezza varia, ma talora anche enorme, per modo da raggiungere il peso di parecchie libbre. Le ovaie sane vengono ora adoperate a scopo terapeutico nei casi di isterismo.

LINGUA. — La lingua viene quasi sempre levata dalla testa e venduta separatamente per essere tosto consumata fresca. Quelle dei buoi, delle vacche e dei cavalli, più comunemente vengono messe per alcuni giorni nel vino con droghe, indi salate e vendute dopo che hanno subito questa preparazione. La alterazione più frequente della lingua consiste nel cosiddetto *sarcoma da actinomiccs boris*, e nella presenza del *cisticerco della cellulosa*, se di maiale. Nei casi lievi, quando cioè questi parassiti non hanno invaso che in piccolissima parte la lingua, questa liberata dalla parte lesa viene ugualmente preparata e venduta nel modo indicato. Noi abbiamo avuto l'occasione però di esaminarne qualcuna di queste lingue malate, e in un caso di salagione incompleta, ci fu dato riscontrare cisticerchi della cellulosa ancora ben conservati. In generale però, in seguito alla salagione completa, i parassiti vengono quasi completamente distrutti, e quindi resi innocui.



**SANGUE.** — Il sangue è un altro piatto per il povero, grazie al suo mite prezzo a cui viene venduto. Quello di maiale lo si vende cotto, ovvero insaccato con altre sostanze sotto forma dei cosiddetti *sanguinacci*. È un alimento molto sostanzioso per alcuni, pochissimo per altri, contenendo una notevole proporzione d'albumina, ma anche molto indigesto; specie poi se ha subito alterazioni, nell'animale in vita, poco apprezzabili ad occhio nudo, come nei casi di infiammazioni interne acute o croniche, di *discrasie*, di *malattie infettive* innanzi annunciate. In oggi è molto in voga l'uso di bere il sangue crudo appena estratto dall'animale a macellarsi, sia solo come esce dai vasi tagliati, sia defibrinato, sia unito ad un po' di latte. A dir vero questa abitudine, indicata come cura nei casi di anemia, clorosi, tischezza, non ci sembra che riprovevole, quando l'uso non è circondato da tutte quelle garanzie volute per assicurare l'intera e perfetta salubrità del sangue: ciò che non è sempre possibile constatare coll'esame di questo, senza aver prima sparato l'animale da cui proviene, ed esaminato tutti i visceri.

Il sangue rende anche ottimi servigi alle industrie; esso serve a chiarificare i vini e i sciroppi, s'impiega nella fabbricazione del bleu di Prussia, del sale ammoniacale: secca, la parte solida o coagulo, costituisce un eccellente ingrasso per le praterie, mentre la parte liquida o siero viene adoperata negli stabilimenti manifatturieri per lucidare stoffe, ovvero da esso se ne estrae la colla.

### B) *Carni degli animali da cortile e selvaggina.*

L'ispezione dei volatili sui mercati, sì vivi che morti, in specie di questi ultimi, è pure di grande importanza, dal lato igienico-sanitario e da quello economico-commerciale, per le malattie infettive a cui vanno soggetti, alcune delle quali sono anche trasmissibili all'uomo.

I polli possono avere carne bianca, giallognola o nerastra secondo la razza a cui appartengono, e la loro bontà varia secondo l'età, lo stato di nutrizione e l'alimentazione: per esempio, i polli che mangiano i bachi da seta morti per flaccidezza, o pel calcino, o le crisalidi dei bozzoli, hanno carni e danno uova cattivissime. La castrazione dei polli favorisce l'ingrassamento e la bontà delle carni, in specie se poi mantenuti a cereali e granaglie.

Le alterazioni delle carni dei polli avvengono: per influenze atmosferiche, per deposito di larve di mosche, per l'insufflazione di aria sotto la pelle per abbottarli fatta direttamente colla bocca, per l'atto dell'estrazione delle intestina quando si devono

trasportare a distanza, per la compressione sternale allo scopo di farli apparire più grossi, donde spesso rottura di visceri e versamento nella cavità addominale di materiali che facilitano la decomposizione delle carni, per cattivi mezzi di trasporto, per digiuni prolungati in cui i polli ingeriscono il loro stereo, per essere scannati imperfettamente o essendo vicini a morire perchè malati.

Le malattie più frequenti cui vanno soggetti i polli sono diverse.

Molto comune è il *colera dei polli*, che decorre rapidamente producendo molta mortalità. Le carni sembrano innocue per l'uomo, malgrado taluni le ritengano capaci di provocare disturbi intestinali. Questi, a mio vedere, sono esclusivamente dovuti alla grande quantità di tali carni che vengono mangiate, specie se da poveri contadini che ne fanno uso solo in tali disgraziate occasioni. Io credo peraltro opportuno la distruzione col fuoco dei polli morti di colera per impedire la facile diffusione della malattia.

Un'altra malattia, che sembra sia stata la causa di una recente grande mortalità dei polli, è il cosiddetto *tifo essudativo* del Rivolta, avente localizzazione intestinale. È stato studiato da molti, che descrissero dei microbi speciali, mentre altri dichiararono di non essere riusciti ad isolare e studiare il microrganismo patogeno. Per le carni valga quanto sopra.

La *tuberculosis* dei polli o *tuberculosis aviaria* secondo alcuni è diversa dalla *tuberculosis* bacillare dei mammiferi (Koch, Rivolta, Maffucci), secondo altri invece (Jones, Nocard) non sarebbe che la stessa malattia modificata per la diversa specie degli animali. Comunque sia, le carni dei polli affetti da *tuberculosis* devono essere sempre distrutte col fuoco, anche per togliere il pericolo di estendere la malattia nel pollaio infetto, o in altri.

La *difterite* dei polli si manifesta, al pari che nell'uomo, con placche difteriche alla retrobocca, spesse, bianco-sporche aderenti ai tessuti sottostanti, e con febbre altissima. L'esito è quasi sempre la morte per la estensione del processo, per la difficoltà di respirare e di inghiottire, ma più di tutto per intossicazione. Si deve ritenere (v. pag. 21) che esistono due forme etiologiche della difterite aviaria, una data da un germe consimile, l'altra data dal bacillo della difterite umana, quindi anche la reciprocità di contagio. Dato ciò, è logico che le carni dei polli malati o morti di difterite non si devono ammettere al consumo, ma distruggerle col fuoco, non potendo in tutti i casi che riescire nocive per la grande quantità di tossine che devono contenere.

Il cosiddetto *rajuolo dei polli* (v. pag. 186) è rappresentato da vescicole o pustole che si sviluppano alla testa ed agli occhi, determinando spesso in quest'ultimo caso la cecità (fig. 302).

La malattia bene spesso guarisce, e se i polli vengono invece uccisi basterà eliminare la testa, ammettendo il resto del corpo al consumo quando non ostino altre lesioni.

Il *cancro o caneroide* della lingua (fig. 303) dei polli è una neoplasia che si inizia alla lingua ed alla base del becco, estendendosi più tardi agli altri organi interni, provocando una vera cachessia cancerigna con dimagramento notevolissimo degli animali. In questo caso le carni devono sequestrarsi e distruggersi, mentre quando il cancro è primordiale e limitato alla lingua, eliminando la testa il resto torna innocuo.

Una malattia dei polli, sulla cui trasmissione all'uomo non vi ha più nessun dubbio, è la *tigna farosa* o *faro* sostenuta da uno



fig. 302. — Testa di piccione con psorospermosi cutanea diffusa (volgo Vainolo).

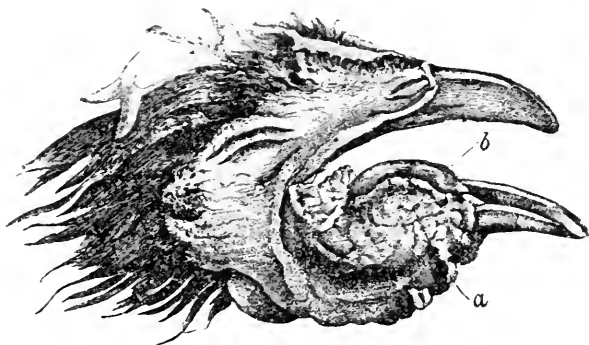


fig. 303. — Cancro o caneroide della lingua.

stesso parassita, *Pachorion Schoenleim*. Limitata quasi sempre alla pelle del collo può estendersi a tutto il corpo (fig. 304). La parte malata ha l'aspetto di un alveare, essendo cadute le penne e presentandosi dei furuncoli in ammassi in un punto circoscritto della pelle. Gli animali affetti soffrono e dimagrano, ma possono guarire se bene curati, con pericolo però in chi li cura di incontrare la ma-

lattia. Talvolta si preferisce uccidere l'animale all'inizio del morbo, ed allora le carni possono essere consumate.



fig. 304. — Favo o tigna favosa.

I pollivendoli studiano mille frodi per ingannare il consumatore; così ad esempio, per far credere che i polli non sono morti naturalmente, fanno una ferita in corrispondenza dell'orecchio e la tingono di sangue; per mascherare l'avvenuta putrefazione li lavano e li tengono nell'acqua corrente; per farli comparire più grassi e più grossi li gonfiano e schiacciano la carena dello sterno, ecc. Ma queste frodi si scoprono con una certa facilità, così: se il pollo non è stato scannato avrà un colore oscuro con carni ricche di sangue, floscie, di cattivo aspetto; se invece è stantio offrirà i seguenti caratteri: aprendo la bocca, la lingua si troverà secca, cartacea in punta, molle, ricoperta alla base di

una patina bianco-sporca, costituita da microrganismi, tramandante un odore ingrato; gli occhi saranno avvizziti, raggrinzati, quasi scomparsi; il punto in cui è avvenuto il dissanguamento (orecchio) sarà oscuro, puzzolente; in vicinanza dell'ano si vedrà una colorazione giallo-verdognola, o verdastra, tutto il resto del corpo si sentirà al tatto molle, floscio, trattenente l'impressione delle dita.

Le carni dei conigli e delle cavie non hanno incontrato le simpatie dei consumatori in Italia, mentre all'estero se ne smerciano in grande quantità, in ispecie sul mercato di Parigi. Eppure è una carne buona quando questi animali sono stati convenientemente mantenuti ed ingrassati.

I conigli vanno però soggetti alla *psorospermosi* o coccidiosi intestinale ed epatica che ne fa una vera strage. I coccidi invadono gli acini epatici distruggendone la sostanza, portando un dimagrimento notevole seguito dalla morte dell'animale. Il fegato affetto presenta tanti punti bianchicci (fig. 305), ed all'esame microscopico (v. pag. 181) ha l'aspetto della fig. 306.

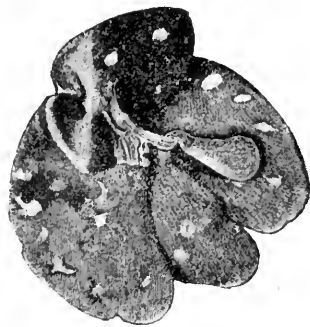


fig. 305. — Fegato di coniglio con grave coccidiosi.

Nel peritoneo e nel fegato dei conigli è frequente la presenza del *cisticerco piriforme* che rappresenta lo scolice della tenia serrata del cane. Esso si trova racchiuso in una cisti avventizia nel peritoneo, libero invece nel fegato, ed in grandissimo numero invadendo e distruggendo la sostanza epatica.

Tanto le cavie quanto i conigli possono annulare di carbonchio, di tubercolosi e di altre malattie, ordinariamente comunicateli a scopo di esperienze.



fig. 306. — Sezione di fegato di coniglio affetto da coccidiosi.

La selvaggina, sia a penne che a pelo, deve essere pure essa oggetto di ispezione sui mercati, potendo quella a pelo trovarsi affetta da carbonchio, da cisticercosi o da altre malattie aventi passaggio nell'uomo.

La selvaggina ha carni oscure, per maggiore ricchezza di ferro secondo Hoel, è molto nutriente ed anche eccitante, ma di difficile digestione. Essa deve portare evidenti le tracce dell'avvenuta necrosi e non trovarsi in condizioni di putrefazione avanzata, per quanto alcuni consumatori desiderano mangiarla in questo stato in cui può riuscire nociva per eventuali sostanze tossiche.

### C) *Carni dei pesci.*

Le carni dei pesci sono ricche di fosforo e si alterano con molta facilità producendo una forma di *botulismo* in coloro che in tali condizioni ne fanno uso.

I pesci si distinguono in pesci di mare ed in quelli di acqua dolce, in pesci a carne bianca come la trota, ed in quelli a carne rossa come il salmone. Essi hanno carni di qualità diverse secondo la località in cui vivono.

Nei laghi, nei torrenti a letto sabbioso i pesci hanno carni migliori, più delicate e saporite e che si conservano meglio: invece quelli che stanno in acque pantanose, negli scoli delle risaie, danno carni scadenti, con sapore ed odore disgustoso, di putredine, riescono indigeste e si decompongono con grande facilità.

Alcuni pesci sono sempre velenosi, altri soltanto nell'epoca della fregola, ordinariamente di estate, ed altri ancora hanno soltanto le uova velenose (Barbio).

Le alterazioni delle carni dei pesci, facilissime in ispecie nella stagione estiva, avvengono per influenze atmosferiche, per larve d'insetti, per manipolazioni, per cattivo imballaggio e modo di trasporto, per il metodo adottato nel pescarlo; inquantochè la dinamite, le sostanze tossiche o narcotiche, le reti a strascico costituiscono i metodi peggiori pei quali i pesci si decompongono prontamente. Non così succede per la pesca fatta all'amo o colle reti, coi quali modi il pesce non viene maltrattato.

Si alterano meno prestamente i pesci di mare che quelli di acqua dolce, quelli a carne rossa che i pesci a carne bianca, i pesci che hanno il corpo coperto di pelle viscida come le anguille e le rane, ecc., che quelli coperti dalle squame.

Nei pesci è stata osservata, con una certa frequenza, la fosforescenza dovuta alla presenza sul loro corpo del bac. fosforescens.

I pescivendoli, allo scopo di far comparire fresco il pesce stantio, usano le seguenti frodi: lo tengono sul ghiaccio per fargli acquistare la perdita durezza, lo lavano di frequente per portare via quella materia viscida che si forma sul corpo, detergono gli occhi per farli comparire vivaci, colorano in rosso col carminio o col sangue le branchie o le levano in totalità, mettono nel ventre dei pesci grossi pescetti piccoli, fanno passare un pezzo di spago attraverso tutto il corpo facendo un nodo alle due estremità per ridonarli la perdita di rigidità, li coprono di alghe marine, ecc. Le ostriche stantie che hanno perduto il naturale loro colore verde, dato da alghe, vengono messe in una soluzione di solfato di rame; ovvero questi molluschi si fanno artificialmente riempiendo una valva vuota, di gelatina e mollica di pane salata, chiudendola poi con un'altra valva e colorandola come sopra, ecc.

Le differenze fra il pesce fresco e il pesce stantio sono le seguenti:

il pesce fresco è manifestamente rigido e sodo, lo stantio no, è molle e trattiene l'impronta delle dita premendolo; il primo ha uno splendore metallico e iridescente, occhi vivaci, branchie di un colore roseo o rosso di sangue, il secondo invece è coperto di una materia viscida, ha gli occhi appannati e le branchie plumbee o biancastre, coll'addome tumefatto per sviluppo di gas nell'intestino;

la percussione fatta colle dita della mano sul corpo dei grossi pesci da taglio (tonno) rileva un suono ottuso se freschi, timpanico se stantii, per gas nella trama dei muscoli;

sul corpo del pesce stantio si possono notare macchie livide e depressioni, e negli opercoli e sulle branchie macchie livide di sangue;

le pinne e le squame mentre sono fortemente aderenti nel pesce fresco, in quello stantio si levano con grande facilità e per le pinne prima le anali, poi le pettorali, le dorsali e da ultimo la caudale quando il pesce è proprio decomposto;

infine messo in un recipiente pieno di acqua il pesce stantio sta a galla o quasi, mentre il fresco va a fondo; fanno peraltro eccezione a ciò i piccoli pesci di mare che talvolta stanno a galla anche se freschissimi e quelli a natatoria molto sviluppata.

Parecchie sono le malattie contagiose dei pesci o epizootie che spopolano i laghi; come pure son parecchie quelle di natura parasitaria (v. pag. 28).

### **Carni salate o comunque preparate.**

L'ispezione di queste carni ha certo un'importanza non inferiore a quella delle carni fresche. Sta di fatto che la maggior parte degli avvelenamenti, o fenomeni che vanno sotto il nome generale di *botulismo*, si devono all'uso di carni preparate, inquantochè le carni fresche, se sono putrefatte o malate, il consumatore le conosce da sè, e perciò si astiene dal farne acquisto o consumo.

La salagione delle carni si fa su grossi pezzi, oppure dopo averle triturate più o meno sottilmente, mescolate con altre sostanze, ed insaccate. Nel primo caso l'alterazione è facile quando si siano salate carni non sane o stantie, o si sia adoperato poca quantità di sale o infine la durata della salagione non è stata sufficientemente protratta in modo che il sale abbia potuto penetrare in tutta la compagine della carne, o siasi adoperata della salamoia scadente, proveniente da salagioni già fatte.

Le alterazioni delle carni insaccate avvengono per le seguenti ragioni: per avere adoperato carni scadenti o per mescolanze improprie di carni, per poca pulizia delle intestina che hanno servito per l'insaccamento, o perchè questo è stato fatto malamente, per poca quantità di sale e droghe adoperate, per imperfetta legatura delle forme e stagionatura, ecc.

Per vedere se il salame insaccato è sano o alterato si guarda innanzi tutto alla durezza, la quale deve essere uniforme su tutta la lunghezza e superficie della forma, poi alla risonanza che deve essere uguale ovunque, ed infine con una puntina di legno affilata si buca il salame introducendola fino nel centro, e poi si estrae odorandola; nel salame sano si sentirà un odore buono,

grato, caratteristico di salato. Nel salame alterato la consistenza è in qualche punto molle, la risonanza più chiara e l'odore cattivo, per avvenuto rancidimento, che incomincia alla periferia della forma o per putrefazione.

Il Serafini ed altri hanno fatti degli studi sulla flora batterica e sulle muffe delle carni insaccate, ma qui basta ricordare che nei salami i bacilli del carbonchio furono riscontrati anche dopo mesi dall'avvenuto insaccamento, e che vi si possono trovare anche i bacilli della tubercolosi, quelli della morva, ecc. per i quali veggasi a pag. 20 e seg.

Per le sofisticazioni delle carni insaccate consistenti: nella mescolanza di varie carni, nell'aggiunta di acqua e farina, di albumina conservata coll'acido borico, di sostanze antisettiche, di droghe od altre sostanze estranee, o nella colorazione artificiale, si veggia questo volume a pag. 566 e seg.

L'affumicamento è un altro metodo di preparazione delle carni che si usa dopo che queste hanno subito una salagione più o meno prolungata. Il fumo investe completamente i pezzi di carne, cosicchè alla loro superficie l'albumina si coagula per effetto del calore e del creosoto, e costituisce uno strato impermeabile all'aria.

Le carni si conservano, previa cottura, anche in scattole chiuse col metodo di Appert, od altro, e poscia sterilizzate. Se la chiusura è stata imperfetta, o le carni erano alterate, allora il coperchio si fa convesso per avvenuto sviluppo di gas all'interno della scattola e perciò devono essere allora eliminate.

Colla carne di maiale, mescolata a quella di pollo ed a lingua di bovini, si fanno altre preparazioni, come la galantina, che è spesso causa di botulismo quando si adoperano per farla carni alterate, malsane.

Casi simili si osservano anche per l'uso dei cosiddetti sanguinacci di facilissima alterazione, in ispecie se fatti con sangue stantio. Anche colle carni dei pesci si fanno dei salami e delle galantine spesso causa di avvelenamenti collettivi, perchè preparazioni fatte con pesci stantii rimasti dalla vendita; di cui se ne maschera l'avvenuta decomposizione con l'aggiunta di molte droghe e con tartuffi.

I pesci si conservano colla salagione, coll'affumicamento, in salamoia, in scattole, sotto aceto o sott'olio, coll'essiccamento, ecc. Se la preparazione non è fatta bene, o quando i pesci erano stantii, allora si alterano con molta facilità, dando luogo a più o meno gravi inconvenienti in chi ne usa.



Il Sodero ed altri hanno studiato le alterazioni a cui vanno soggetti specialmente i baccalari, consistenti nella colorazione rossa, gialla, giallo d'oro, di ruggine, o nel disgregamento dei tessuti, previo sollevamento della pelle.

## IGIENE DEL LATTE.

### Generalità.

Il latte è un alimento di prima importanza. Indispensabile ai neonati durante i primi periodi della loro esistenza, esso è, a tutte le età, per l'uomo, un alimento sano, fortificante ed economico: si è col latte ed i suoi derivati che si paga meno caro un chilogramma di azoto alimentare (Duclaux).

Il consumo del latte, in specie nelle città, va sempre più aumentando, e ciò per due ragioni: 1<sup>a</sup> perchè ne diventa sempre più frequente il consumo alimentare: 2<sup>a</sup> perchè in molte malattie viene adottata la dieta lattea. Per l'una e per l'altra di queste ragioni, anzichè pel solo aumento della popolazione, Roma nell'ultimo decennio ha raddoppiato il consumo del latte, per quanto siamo ancora lontanissimi da quello delle altre capitali d'Europa, come Parigi, Londra, ecc., dove il latte consumato annualmente per ogni abitante raggiunge una cifra assai superiore.

In tal modo l'ispezione del latte ha acquistato un'importanza ancora maggiore di quella che in passato, tenuto conto che si possono trasmettere, con questo mezzo, malattie infettive e provocarsi disturbi gastro-enterici ed avvelenamenti.

Se si considera che la grande mortalità dei neonati fino ad un anno di età è dovuta all'allattamento mercenario ed artificiale, e che quella dei bambini da 1 a 4 anni (che è anche maggiore), ad insufficiente e spesso dannosa alimentazione lattea, per le fiadi molteplici e di ogni natura che vengono fatte al latte dai venditori, in modo da renderlo, anzichè nutriente, indigesto e nocivo: se si considera tutto ciò, chiaramente appare quanto sia elevata, eminentemente umanitaria l'opera di chi impedisce con tutti i mezzi, con tutte le sue forze, simili deleteri effetti.

Ma per ottenere ciò occorre una perfetta cognizione del latte, del come è composto, del come si forma, quali sono le cause che ne variano la qualità e la quantità, a quali alterazioni va soggetto, ecc., questo principio degli alimenti.

### Cause che fanno variare la quantità e la qualità del latte.

La secrezione lattea può variare nella sua quantità ed, in certi limiti più ristretti, anche nella sua qualità, per effetto di varie cause, fra cui le più importanti sono le seguenti:

1. *La razza*: nel senso che vi sono delle vacche che danno una grande quantità di latte come l'Olandese, la Durham, la Schwitz; ed altre invece che ne danno assai meno: la maggiore produzione di latte è sempre a danno della qualità, diventando più acquoso.

2. *L'individualità*: pur appartenendo alla stessa razza vi sono delle vacche che danno molto latte e delle altre che ne danno meno; di quelle che danno un latte ricco di caseina, dette *formaggere* (poco adatte per fornire latte pei bambini riuscendo indigesto), e delle altre che forniscono un latte con molto grasso e chiamate perciò *barriere*.

3. *L'età*: nelle primipare, le mammelle non essendo ancora bene sviluppate, la produzione lattea è poca, e con pochi principi fissi; dopo il quarto parto il latte è abbondante e sostanzioso sino all'ottavo, per decrescere poi, per il processo involutivo della glandola mammaria dovuta alla vecchiaia.

4. *Stato di calore*: nell'epoca della monta il latte subisce delle modificazioni non bene conosciute, esso ha un odore speciale, si altera con facilità ed ha talvolta provocato dei disturbi nervosi nei bambini che ne hanno fatto uso, per cui è bene in quest'epoca, che dura di solito un paio di giorni, l'escluderlo dall'alimentazione, utilizzandolo diversamente, o dopo prolungata bollitura.

5. *Gestazione*: nel primo periodo della gravidanza il latte resta normale, ma dopo il quarto mese circa le materie grasse, i sali solubili, l'acido fosforico diminuiscono, e la caseina aumenta, rendendolo indigesto e non più appropriato pei neonati.

6. *Distanza dal parto*: la secrezione lattea si inizia verso la fine della gravidanza ed incomincia subito dopo il parto con una secrezione speciale detta *colostro* (v. pag. 35 e 574); ma dopo 5 o 6 giorni dal parto il latte prende la sua composizione normale, che continua nel primo periodo colla massima rendita, diminuendo nel secondo, per restare stazionaria nel terzo e diminuire di nuovo nel quarto, e cessare al settimo od ottavo mese di gravidanza.

7. *Ora e modo di mungitura*: è dimostrato che il latte della sera è più ricco di burro del latte della mattina e contiene anche

un po' più di caseina, mentre rimangono presso a poco nella stessa quantità lo zucchero ed i sali minerali; ciò che a mio credere dipende dal perchè, durante la notte, anche la mammella riposa alquanto e la funzione produttrice del latte resta perciò affievolita. Il primo latte che, per l'atto del mungere, sorte è meno ricco di grasso dell'ultimo, perchè i globuli lattei, essendo più leggeri, stanno nella parte superiore ed escono per ultimi. Occorre quindi mungere a fondo, completamente, le mammelle.

8. *Tenore di vita*: cioè alla stalla, stabulazione permanente, o al pascolo col metodo brado o semibrado. Col sistema di tenere le vacche nella stalla il latte è più acquoso, *debole, fiacco*, come dicono i lattai, poco nutritivo perchè povero di principî fissi, specie di grasso; è quindi pessima l'abitudine di tenere le vacche in città per volere vedere mungere il latte che si vuol acquistare, nel mentre colla stabulazione sono facili le stasi degli organi interni, e perciò le malattie fra cui la tubercolosi. Col pascolo invece è reso più attivo il ricambio sostanziale, e perciò il latte è molto più ricco di grasso ed assai migliore, per quanto minore ne sia la quantità prodotta. Occorre alternare la stabulazione col pascolo giornaliero, o colla costruzione di un parco o paddock ove le vacche possano passarvi alcune ore della giornata.

9. *Lavoro*: induce una diminuzione nella quantità di latte, e più specialmente della parte acquosa, rimanendo pressochè stazionari gli altri principî, sempre quando il lavoro non sia eccessivo e l'alimentazione appropriata.

10. *Condizioni dei locali ad uso stalla*: hanno un'importanza grandissima sia per la quantità, come per la qualità del latte e per le alterazioni al quale va soggetto.

Prima condizione per l'igiene della stalla è che i prodotti del ricambio organico vengano eliminati rapidamente e completamente, e che nessuna decomposizione organica si produca nell'interno della medesima. L'ampiezza dei locali tale che la cubatura corrisponda almeno a mc. trenta per ogni animale; le finestre siano ampie, ventilatori nella parte più alta dei locali, la pavimentazione impermeabile e l'inclinazione delle poste tale che i liquidi scolino agevolmente nei collettori, anch'essi inclinati in guisa che lo scarico avvenga senza ostacolo, e provvedute di chiusura idraulica, l'acqua sia abbondante e pura e permetta frequenti lavaggi giornalieri.

Le mangiatoie e gli abbeveratoi siano anch'essi costrutti di materia impermeabile, preferibilmente in cemento, e senza spigoli rientranti, perchè in nessun luogo possano soffermarsi i residui alimentari o altro. Utilissima disposizione è quella che le mangiatoie non siano addossate alla parete, ma ne siano discoste sufficientemente in guisa che il governo degli animali, possa farsi

anche dal lato opposto alla posta. Ciò, oltre rendere agevole il governo degli animali, facilita grandemente la nettezza delle mangiatoie.

L'unità fig. 307, dà un'idea generale del come dovrebbero essere costruite le stalle a scompartimenti, usato in America ed altrove.

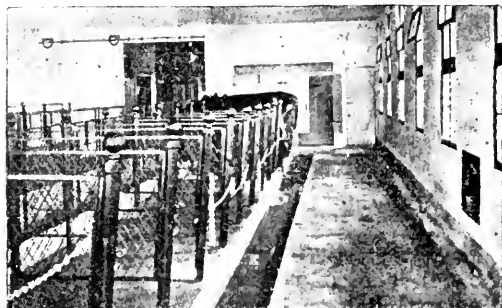


fig. 307. — Stalla americana a scompartimenti in ferro.

Le pareti della stalla devono potersi lavare e disinfettare. Economico e igienico è a tale scopo la calce, alla condizione che frequentemente (una volta al mese) le pareti vengano ricoperte con nuova calce. I foraggi dovranno essere prossimi alla stalla, ma giammai nella stalla medesima.

La lettiera, che dovrà essere rinnovata frequentemente e che potrà essere

di paglia, di torba o di segatura di legno a seconda dei casi, dovrà in ogni caso essere ricoperta frequentemente di gesso e perfosfati nella sua metà posteriore, onde diminuire la produzione di ammoniaca, che, non soltanto è un prodotto nocivo agli animali, ma rappresenta eziandio una perdita economica che impoverisce il concime dell'azoto organico. Il letame dovrà essere regolarmente esportato e disposto in apposite concimaie il più possibile discosto dalla stalla, non meno di metri quaranta, per evitare che i prodotti della decomposizione possano inquinare l'atmosfera della stalla, ed anche il latte durante la mungitura.

La temperatura della stalla dovrà essere mantenuta a 14° C. tanto di estate come d'inverno.

Per l'igiene d'una stalla di vacche è da ritenere indispensabile un locale separato e discosto che serva, diremo così, di *sanatorium* per le vacche malate. Come anche sarà utile che esista un locale separato per le vacche che devono partorire, acciocchè il parto e il puerperio si svolgano separatamente dagli altri animali con vantaggio reciproco.

11. *Mastagogia*: è una specie di massaggio che si fa colle ripetute mungiture e con maneggiamenti speciali dei capezzoli e delle mammelle allo scopo di aumentare la quantità e migliorare la qualità del latte. È basata sul modo con cui si comportano i piccoli di tutte le specie, i poppanti, i quali, nel momento di succhiare il latte, non si accontentano di afferrare il capezzolo e di aspirare il liquido, ma esercitano colla testa delle scosse sulla glandola, esse spingono le mammelle verso il torace, o l'addome (secondo le fem-

mine), come per comprimerle, per scuoterle: sono movimenti inconsci che hanno per effetto di aumentare l'attività lattea, la funzionalità della mammella.

12. *Castrazione* o l'esportazione delle ovaja, è stata indicata in ispecie per le vacche destinate a fornire il latte pei bambini, allo scopo di avere un latte sempre di uguale composizione, impedendo le variazioni dovute alla gravidanza, ecc.

Bisogna essere contrari a tale pratica dal momento che esistono dei rapporti simpatici fra le mammelle e gli organi genitali interni, e quindi necessita una nuova gravidanza, perchè la secrezione lattea continui normale ed in quantità, quale dalla natura venne creata. La mammella inoltre, come qualsiasi altro organo, ha pure essa bisogno di riposo per rifarsi, per prepararsi ad una nuova fase produttiva. Le esperienze sulla castrazione hanno provato che le vacche dopo tale operazione diminuiscono nella produzione lattea, con danno non indifferente.

In alcune località estere si rimedia più razionalmente all'inconveniente della gravidanza, coll'utilizzare il latte per alimentazione dei bambini, fino al quinto mese di essa, e poi destinandolo per la fabbricazione dei latticini.

12. *Alimentazione*: basta confrontare la quantità delle sostanze organiche contenute nel latte in rapporto coll'alimentazione scarsa od abbondante, per convincersi della grande influenza che l'alimentazione in genere esercita nell'attività funzionale della glandula mammaria, nonchè in relazione alla qualità degli alimenti.

L'esperienza dimostra infatti che un'alimentazione riccamente proteica influisce non solo sulla rendita di latte in complesso, ma anche sulla quantità dei componenti principali del medesimo, e specialmente sul *contenuto del latte in grasso*, avvalorando così la dottrina del Voit che il grasso animale deriva specialmente dai proteici. Controversa è l'influenza dell'alimentazione proteica sulla quantità dello zucchero di latte, secondo il Munk il vitto ricco di sostanze proteiche non solo fa aumentare la quantità del grasso e dei proteici del latte, ma anche la quantità del lattosio. Il grasso degli alimenti non fa aumentare il grasso del latte, ma, risparmiando il consumo azotato, fa sì che l'albumina possa essere impiegata in più larga misura dalla glandula mammaria per la formazione del burro. Nessuna influenza sulla quantità del lattosio esercitano gli idrati di carbonio introdotti coll'alimentazione. Cagne, invece, tenute ad alimentazione esclusivamente carnea contengono molta quan-

tità di zucchero nel latte. Hofmeister osservò che frequentemente nell'orina della donna, e dei mammiferi in generale, si trova lattosio prima e dopo il parto che si suppone provenga da riassorbimento del lattosio che si forma dalle cellule della glandola mammaria (Luciani).

Per ottenere del buon latte ed in quantità, occorrono adunque alimenti sani e ricchi di sostanze proteiche, erbe tenere e giovani di praterie naturali, trifogliai, medicai ed altre leguminose di estate, buon fieno d'inverno, con radici e tuberj, ma in poca quantità, a cui bisogna aggiungere farine, crusche, semi frantumati, e panelli sani sostanziosi.

L'esclusiva alimentazione delle erbe di marcita, e delle polpe di barbabietole da zucchero, danno un latte acquoso e contenente una quantità di grasso inferiore al normale, come più volte è ovvio di constatare. Lo stesso si verifica dall'eccessivo consumo di rape. I residui delle distillerie rendono il latte improprio per bambini.

14. *Acqua*: questa deve essere contenuta, immedesimata in discreta quantità negli alimenti, inquantochè, data sotto forma di bevanda, dopo alimenti esclusivamente secchi, non fa aumentare la produzione del latte. L'acqua non deve essere mai somministrata fredda ma sempre tiepida, sotto forma di beveroni con farina di segale o di frumento, ed essere di buona qualità, potabile, altrimenti imprime cattive qualità al latte.

Quando si è chiamati a dare ragione del cattivo odore di putridume che abbiano dei latti che nel resto siano normali, bisogna accuratamente osservare se talora non dipenda dalle pessime acque, infiltrate da scolaticci di letamai, di risaie, di marcite, o tal'altra da erbe di prati con quantità di stallatico non ancora smaltito, rimasto alla superficie.

15. *Cloruro di sodio*: è provato che contribuisce assai alla produzione lattea in modo indiretto, favorendo l'assimilazione degli alimenti ed il ricambio materiale. Wolf dice: « La benefica influenza del sal marino sulla quantità e sulla qualità del latte spesso non si manifesta in un modo diretto ed istantaneo, anche quando l'alimentazione sia ricca e sufficiente: la sua azione invece si rivela negli animali conferendo loro un aspetto migliore ed uno stato di generale benessere, il che concorre con molta probabilità, a prolungare il periodo di tempo, durante il quale ottengono i più elevati prodotti in latte. Il cloruro di sodio concorre inoltre a rendere i foraggi più saporiti, stimola l'appetito degli animali e migliora per così dire i foraggi scadenti ».

Il sale, nella dose di 15 a 20 grammi al giorno per vacca, è meglio somministrarlo puro, che tanto costa poco, mentre il sale pastorizio contiene impurità e sostanze eterogenee che lo rendono pressochè inefficace e poco appetitoso agli animali.

16. *Fermenti solubili*: nel latte oltre i componenti già accennati, esistono dei fermenti biochimici solubili. È questo un argomento del tutto nuovo, che merita di essere studiato ancora.

Questi fermenti biochimici solubili si trovano in grandissima quantità nel latte di donna e di cagna; nel latte di vacca e di capra mancano quasi del tutto. Essi hanno la proprietà di rendere più digeribili, più assimilabili i componenti del latte. L'Escherich, in un rapporto presentato al Congresso internazionale di Parigi, nel 1900, ha emesso l'opinione che la superiorità dell'allattamento naturale su quello artificiale per i bambini dipenda appunto dalla presenza di questi fermenti nel latte di donna che mancherebbero nel latte di vacca e di capra.

D'altra parte Béchamps ha già constatato la presenza nel latte di donna del fermento amilolitico. Ora, la nutrizione si compie coll'aiuto dei fermenti diversi. La digestione propriamente detta è l'opera delle zimasi elaborate dalle ghiandole salivari, dalle mucose gastrica ed intestinale, dalla flora batterica dell'intestino, ecc. Altri fermenti solubili, secreti degli organi e delle glandule interne, sono riversati nella circolazione ed agiscono come veri fermenti della nutrizione, stimolando e regolarizzando gli scambi nutritivi; e forse certi latti contengono precisamente i fermenti necessari alla nutrizione del bambino, che non si possono formare in essi per incompleto sviluppo degli organi succitati.

A dilucidare questa importante questione ha lavorato l'Escherich, e noi qui, non potendo esporre diffusamente le sue numerose esperienze, ci limiteremo a trascrivere le conclusioni a cui è arrivato:

1° si trovano nel latte di donna e dei differenti animali, in quantità più o meno grande, numerosi fermenti solubili: a) il *fermento tripsico* si riscontra sempre in uno stato molto attivo nel latte degli animali esaminati (vacca, capra, cagna) ed in grado minore nel latte di donna e di somara; b) il *fermento pepsico* esiste egualmente, ma è meno energico; c) il *fermento amilolitico* si riscontra nello stesso grado nel latte di donna e di cagna, ma non si trova nel latte di capra e di vacca; lo si trova qualche volta, un poco energico, nel latte di somara, spesso vi manca completamente; esso saccarifica l'amido; d) il *fermento idratante*, che trasforma il salolo in acido fenico ed in acido salicilico, esiste sempre nel latte di donna e di cagna, esso è molto meno energico nel latte di somara, e manca sempre nel latte di vacca e di capra; e) la *lipasi*, come il fermento proteolitico, è stata ritrovata, ad un grado più o meno attivo, in tutte le specie di latte esaminate; f) l'*ossidasi* si comporta all'opposto dei fermenti dell'amido e del salolo, perchè essa è molto attiva nel latte di vacca e di capra, e può essere appena messo in evidenza nel latte di donna; g) il *fermento glicolitico* si trova in grado diverso in tutte le specie di latte esaminate;

2° il latte dev'essere dunque considerato, non come una semplice mescolanza di sostanze chimiche nutritive, ma come un liquido contenente degli elementi biochimici attivi;

3° le differenti specie di latte esaminate, sotto il punto di vista dei fermenti che contengono, possono essere raggruppate in due grandi categorie: latte proveniente da animali onnivori (donna, cagna) e latte proveniente da animali erbivori (vacca e capra);

4° i fermenti solubili del latte non debbono essere considerati come specifici, o per meglio dire come esclusivamente propri all'una o all'altra specie animale, perchè, modificando l'alimentazione dell'animale lattifero, si possono far comparire nel suo latte, per esempio, in quello di capra, tutti i fermenti contenuti nel latte di donna e di cagna;

5° per ottenere nella pratica un latte di vacca o di capra contenenti gli stessi fermenti di quello della donna, basta somministrare all'animale, assieme al suo alimento ordinario, qualunque dei fermenti di cui il suo latte è privo;

6° i fermenti contenuti nel latte paiono per conseguenza essere intimamente legati al genere d'alimentazione dell'animale da latte, e debbono essere considerati in gran parte come fermenti dovuti ad una secrezione specifica;

7° infine, è evidente, dopo quello che s'è detto, che sarebbe preferibile di poter somministrare al bambino il latte crudo, raccolto asceticamente, e conservato in ghiaccio impedendo lo sviluppo dei batteri, senza distruggere, come si fa col calore, le sue proprietà attive.

Lo Spolverini, allo scopo di riparare agli inconvenienti dell'alimentazione artificiale nei bambini, ha cercato di produrre le sostanze biochimiche solubili nel latte di vacca e di capra, che non ne contiene, e che sono quelle destinate a fornire il latte pei bambini. Infatti alimentando questi animali con alimenti di origine animale, ha riscontrato nel loro latte i suddetti fermenti solubili. Inoltre trovò che quest'ultimi si trovano in discreta quantità nell'orzo appena germogliato. Con quest'orzo, aggiunto alla razione ordinaria, si ottiene adunque lo scopo, evitando gli effetti che si avrebbero cambiando agli animali lattiferi (vacca e capra) il regime vegetale loro proprio con quello animale.

La quantità di orzo germogliato, secondo le varie esperienze, da somministrarsi giornalmente sarebbe di circa 150 grammi per ogni litro di latte prodotto, e lo si prepara un giorno per l'altro bagnando l'orzo con acqua calda quindi mettendolo su griglie o graticchie a fermentare.

16. *Medicamenti e veleni.* La maggiore parte di questi passano nel latte, ed è noto che si approfitta di ciò per dare alle lattanti i rimedi che si vogliono dare ai poppanti. Si è tentato di avere dei *latte medicati* somministrando alle vacche ed alle capre i bromuri, gli ioduri, i preparati arsenicali, quelli mercuriali, ecc.; ma la quantità necessaria di questi da darsi agli animali per averli nel latte è troppo forte, e ne avviene perturbamento più o meno



grave nelle funzioni fisiologiche ed anche avvelenamento. Migliore risultato si è ottenuto dalla somministrazione della polvere d'ossa finissima agli animali lattanti, ottenendo da essi un latte più ricco assai di sali, che ha dato buoni risultati nei bambini.

### IGIENE DELLE VACCHERIE E DELLE LATTERIE.

Il latte proveniente da un animale sano con mammelle normali, e previamente disinfettate, è puro ed amicrobico. Tuttavia ordinariamente il latte dopo munto contiene un'enorme quantità di microbi e di impurità che ne facilitano l'alterazione e la decomposizione sua. Ciò dipende dalle seguenti cause: nessuna pulizia delle mammelle, dei capezzoli, delle mani dei vaccari, dei recipienti, delle stalle; nessuna cura nella raccolta e nel trasporto del latte, nell'alimentazione (fieni ammuffiti, guasti, corrotti, ecc., nella lettiera (sporca, fatta di foglie e di stramaglie putride, fermentate, ecc.); mancato o deficiente governo generale delle bestie lattifere: speciali maneggiamenti riprovevoli fatti sulle stesse, come usasi nella campagna romana per le bestie brade: acqua impura che serve per pulire i secchi; infine poca igiene dei locali di deposito del latte ed in quelli della sua ulteriore preparazione e trasformazione in latticini, ecc., ecc.

La moltiplicazione dei microrganismi nel latte è veramente grande. Essa è favorita dalla temperatura del latte stesso (34° C. circa) e dall'ambiente in cui è tenuto, e più di tutto dall'aria più o meno tiepida della stalla nei diversi momenti della giornata.

A tale proposito, dalle esperienze istituite nel 1899 da N. Lönnroth, risulta quanto appresso:

Tab. 83.

Condizioni dell'esperienza	Microrganismi per metro cubo		
	Minimo	Massimo	Media
Distribuzione del fieno . . . . .	1.050.000	6.000.000	3.193.000
Mungitura del mezzodi . . . . .	600.000	2.800.000	1.448.000
Riposo del mezzodi . . . . .	400.000	2.000.000	1.210.000
Sotto il ventre di una vacca . . . . .	2.800.000	3.660.000	3.200.000

e cioè che l'aria della stalla contiene molto più germi durante la distribuzione del fieno che durante il riposo del mezzodi. Durante la mungitura del mezzogiorno il numero dei germi nell'aria è un po' maggiore che durante il riposo,

e il più gran numero di microbi si trova sotto il ventre della vacca. Quest'ultimo fatto dipende dal perchè l'animale si corica su una lettiera più o meno sporca, e perchè, quando si munge la mammella, un po' di latte schizza sempre attorno ad essa, e, fermandosi sotto il ventre, vi diventa un ottimo terreno di coltura pei germi.

Il Barthel rinnovando le esperienze succitate, in una stalla costruita da poco tempo, e secondo le regole più moderne dell'edilizia e dell'igiene, trovò che il numero dei microbi era assai minore, e che l'abbassamento del numero dei germi contenuti nell'aria delle stalle, trae seco l'abbassamento del numero dei germi contenuti nel latte.

Per impedire, in gran parte, la presenza dei microbi in una stalla e nel latte bisognerebbe adunque fare la foraggiata, il cambio della lettiera e l'abbeverata (quando questa avviene fuori del locale) dopo la mungitura, ovvero lasciare trascorrere un certo tempo prima di farla, e bagnare con acqua l'andito perchè i microbi anzichè sollevarsi restino trattenuti al suolo.

Vero è che talvolta i microbi (secondo le esperienze di Boekhont e di Vries) si trovano anche nelle mammelle, e più spesso, lungo i capezzoli: microbi che poi passano nel latte, a meno che non si abbia la precauzione di lasciare scolare sulla lettiera le prime parti del latte, e di usare molta pulizia come diremo in appresso.

Ma, dice Freudenreich, la sorgente principale della contaminazione del latte deve essere certamente cercata nelle materie fecali che insudiciano sì frequentemente le mammelle della vacca. Sarebbe opportuno perciò che le stalle fossero costruite e le vacche tenute in modo che le mammelle non possano imbrattarsi (sistema olandese ed americano).

È noto che in Olanda la coda delle vacche è tenuta sospesa mercè una cordicella che attraversa una carucola e termina con un peso che permette alcuni movimenti limitati alla coda, impedendole d'imbrattare le parti posteriori e laterali e le mammelle della vacca. A ciò aggiungasi la pulizia continua dell'ano, della vulva, ecc.: il ricambio della lettiera sporcata dallo sterco e dalle urine e l'accurato governo generale giornaliero delle vacche, la disinfezione frequente delle stalle e di tutto ciò che è inerente ad esse, dei recipienti, ecc.: e si comprenderà di leggieri quale differenza esista fra quel sistema e quello adottato generalmente da noi, dove il proprietario della vaccheria ben poco si cura di sorvegliarla, di curarne la nettezza.

Crediamo opportuno quindi di indicare, nell'interesse della igiene, ed eziandio della produzione del latte e dei latticini, le seguenti *disposizioni* che dovrebbero essere rese obbligatorie, almeno per le vaccherie destinate alla fornitura del latte alle città:

a) *relative al personale*: occorre innanzi tutto che esso sia costituito da individui sani ed ossequienti alle prescrizioni di una asepsi rigorosa in tutte le operazioni che loro incombono. Gli uomini e le donne, incaricati dei vari servizi, devono essere sottoposti ad esame medico che escluda in essi qualsiasi malattia contagiosa, e specialmente la tubercolosi; nonchè i morbi della pelle, le ferite, le piaghe sulle mani, ecc. Essi devono curare la pulizia generale del corpo, portare abiti puliti, non sputare nè sulle lettiere, nè in terra, ed avere la massima cura per la nettezza dei recipienti e degli altri arnesi del mestiere, nonchè delle proprie mani, che devono essere ripetutamente lavate in ispecie prima di praticare la mungitura. In questo caso devono provvedersi di una veste e di un copricapo bianchi, puliti e lavati due o tre volte la settimana. La fig. 308 mostra la tenuta e la nettezza del vaccaio americano:

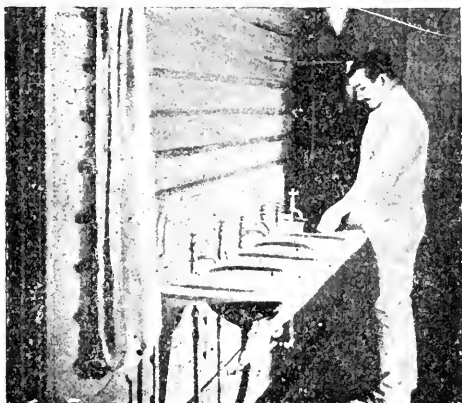


fig. 308. — Vaccaio americano che sta facendola toeletta prima di eseguire la mungitura.

b) *relative alle vacche*: le vacche destinate a fornire il latte devono essere scelte fra quelle razze che vanno meno facilmente soggette alle tubercolosi, ed essere perfettamente scevre da qual-

siasi malattia in genere e delle mammelle in ispecie. Prima di ammetterle, dovranno essere sottoposte alla prova della tuberculina, che dà ottimi risultati. Ad ogni accenno di malattia dovranno venire tosto visitate da un veterinario, sotto la cui responsabilità il latte verrà, o meno, ammesso al consumo, durante la malattia stessa. La razione alimentare dovrà essere possibilmente sempre eguale, e non subire forti variazioni nella relazione nutritiva, ciò che tornerrebbe a danno dei consumatori, in particolare dei lattanti pei quali ogni variazione nella composizione del latte è subito risentita con disturbi gastro-enterici od arresto nello sviluppo:

c) *relative alla mungitura*: deve essere costante regola il legare la coda della vacca, nel modo che si crederà più opportuno, durante la mungitura, onde evitare che, scuotendola, possa venire contaminato il latte contenuto nel secchio.

Le mammelle ed i capezzoli devono essere lavati, prima della mungitura, molto accuratamente e molto abbondantemente con acqua calda saponata, cambiando l'acqua due o tre volte. Il primo latte che esce dalla mammella deve essere messo in recipiente separato ed escluso, perchè può contenere microrganismi, capaci di alterare il latte, entrati dall'esterno nei canali galattofori. Pur troppo però in genere i nostri vaccari adoperano il primo latte munto per pulire le loro mani ed i capezzoli della vacca, contaminando in tal modo il latte di microbi e di ogni sorta di impurità. Recentemente sono state adottate le mungiture pneumatiche, mercè le quali il latte dai condotti galattofori passa direttamente nel recipiente destinato a raccogliarlo:

d) *relative ai recipienti*: i recipienti che servono per raccogliere il latte durante la mungitura devono essere di ferro stagnato o meglio zincato e tenuti con proprietà. Devono essere puliti, prima della mungitura, lavandoli con soluzioni calde di carbonato di sodio prima, e poi sciacquandoli con una buona acqua potabile, e finalmente con acqua bollita. Si devono evitare in ogni modo i recipienti di legno o di altro materiale che possa imbevversarsi di latte e che non presenti superficie lisce, levigabili, facilmente lavabili e disinfettabili. Anche i recipienti o bidoni che servono per trasportare il latte dalla vaccheria alla rivendita, dalla campagna in città, oppure in altro luogo, devono essere di ferro zincato a chiusura ermetica naturale, senza l'intermezzo cioè di anelli di gomma od altro (fig. 309). Questi bidoni

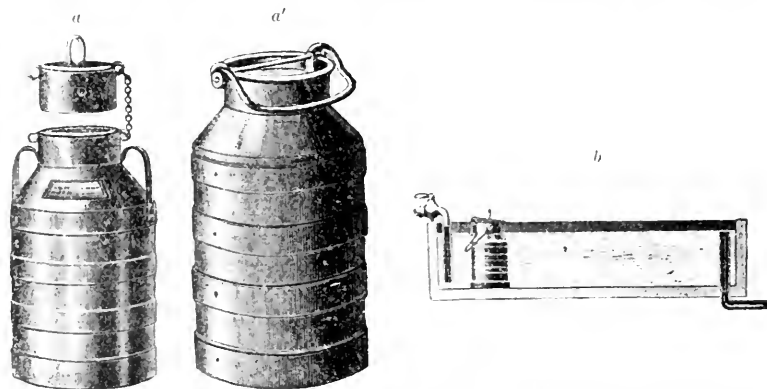


fig. 309. — *a a'*, recipienti o bidoni di ferro zincato; *b*, vasca per tenerli in fresco.

devono subire spesso delle accurate pulizie fatte in modo che nessuna parte di essi sia privata di un abbondante lavacro. A tale

scopo giovano molto bene gli apparecchi di cui diamo la fig. 310. pel lavaggio circolare o verticale dell'interno dei recipienti;

e) *relative alla filtrazione*: il latte appena munto, per allontanare subito da esso ogni particella estranea (peli, stercio, paglia), si assoggetta ad un'accurata filtrazione facendogli attraversare in direzione ascendente due strati di sabbia di crescente finezza (come alla fig. 311), mercè apparecchi che vengono

ripuliti e disinfettati col calore ogni giorno. Communemente si adoperava invece un finissimo setaccio il quale non trattiene che le parti

più grossolane, lasciando passare le piccole:

f) *relative alla refrigerazione*: il latte appena munto deve essere refrigerato per mezzo di un apparecchio Lawrence, o del refrigerante Schmidt (v. pag. 846), per moderare la moltiplicazione di quei microrganismi che producono acido lattico e che fanno coagulare il latte. Anche dopo raffreddato il latte si deve conservare in un ambiente freddo (camera frigorifera), o tenere i bidoni in una vasca di acqua fredda trascorrente, come alla succitata figura 309;

g) *relative agli spacci o latterie*: il trasporto del latte dal luogo di produzione agli spacci di vendita deve farsi con carri

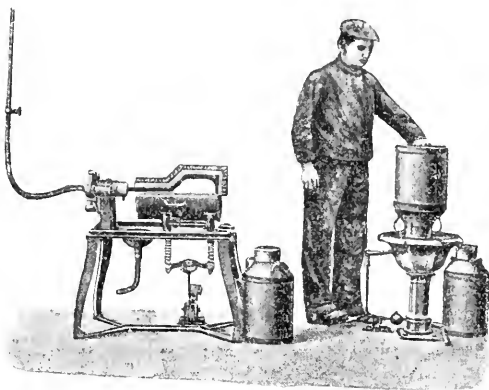


fig. 310. — a, pulizia dei bidoni con getto d'acqua verticale: b, per pulire i bidoni in senso orizzontale mercè una spazzola.

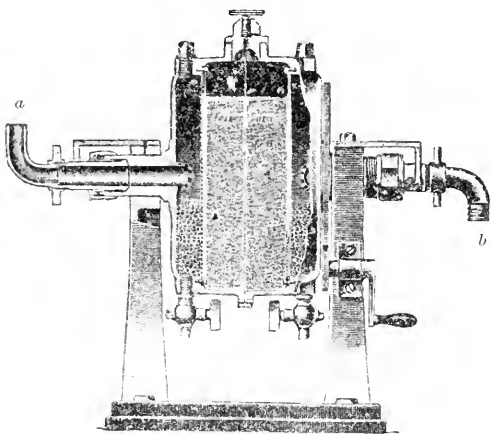


fig. 311. — Apparecchio per la filtrazione del latte attraverso due strati di sabbia — a) entrata, b) uscita del latte.

coperti, possibilmente di notte, e, nella stagione estiva, anche refrigerati con ghiaccio. I locali di deposito e di vendita del latte devono essere freschi, bene aereati, tenuti colla massima pulizia e non servire ad altri usi.

Per impedire che il latte si alteri, deve negli spacci essere tenuto in recipienti conservati in ambienti freddi, ed ermeticamente chiusi in modo che il latte non può subire manomissioni di sorta (fig. 312).

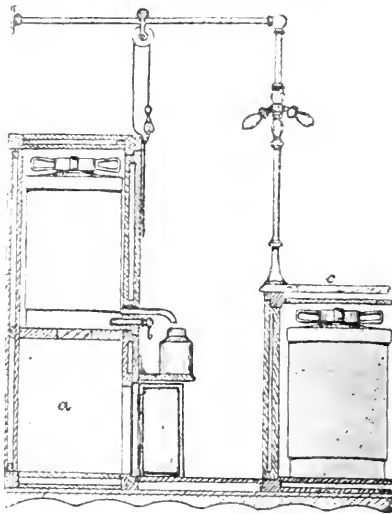


fig. 312. — Vasti recipienti tenuti in ambienti refrigerati con chiusura ermetica.

Per la vendita del latte è da sconsigliarsi quella fatta in fiaschetti turati con foglie, o in altro modo poco igienico e che facilita eziandio la manomissione del latte. Sono migliori le bottiglie di vetro con tappo a smeriglio, e chiuse in modo da impedire ogni sostituzione. Meglio ancora è la vendita, come si fa all'estero, del latte in recipienti chiusi ed impiombati, offrendi così tutte le garanzie desiderabili.

Per la spesa e per altre ragioni, le disposizioni suindicate

non sempre vengono poste in uso da noi.

**LATTERIE SOCIALI.** — Per la osservanza completa delle norme su descritte, sarebbe necessario sopprimere la piccola rivendita e costituire società, sul tipo di quella di Copenhagen, con capitali propri e con intendimenti soprattutto umanitari e limitatamente industriali.

Tale società fu fondata nel 1878 per azioni, e, superando ostacoli non piccoli e vincendo non poche difficoltà, è arrivata fino ad oggi circondata dalle simpatie del pubblico ed appoggiata dalle autorità mediche di Danimarca.

Molti sono i fattori che, secondo Gorini, contribuirono e contribuiscono tuttora alla fortuna dell'impresa.

Idea felice fu anzitutto quella di dare ad essa un carattere non esclusivamente commerciale, ma anche igienico e filantropico, stabilendo che ogni utile eccedente il 5% venga impiegato a ribassare il prezzo del latte e a migliorare l'azienda in generale. In

conformità a questo indirizzo, la compagnia si è posta sotto il controllo di periti e di persone competenti che prestano *gratuitamente* l'opera loro, acciocchè non vi abbiano nessun interesse materiale.

Altro saggio provvedimento fu di organizzare un rigoroso servizio di analisi del latte, sia a scopo interno per garantirsi contro le frodi dei fornitori, non disponendo la compagnia di stalle proprie, sia a scopo esterno per garanzia del pubblico.

Al primo intento, ogni sera all'arrivo del latte allo stabilimento, si prelevano i campioni che sono esaminati al mattino successivo in una stazione di analisi annessa allo stabilimento medesimo.

L'esame consiste nella determinazione del peso specifico col l'areometro Quevenne, e nella determinazione del grasso. Se il latte sia trovato in qualche parte difettoso, vien subito rimandato al fornitore.

Contemporaneamente alla presa del campione, si misura la temperatura di ciascun latte, e se essa superi i 10° C., il latte viene disperso a spese del fornitore.

A garanzia del pubblico, poi, ogni mattina si preleva un campione medio da ciascuna qualità di latte e di crema, che vien messa in commercio in quella giornata, e lo si spedisce al laboratorio di fisiologia dell'Università, che pubblica mensilmente i risultati delle analisi quotidiane, dando i valori massimi, minimi e medi.

Un terzo fattore del buon esito dell'impresa lo si deve rintracciare nelle misure adottate per salvaguardare la produzione stessa del latte, nonchè il suo trattamento fino al suo arrivo nella latteria. A tal uopo fu redatto un regolamento speciale che i fornitori sono tenuti ad osservare sotto la sorveglianza di appositi veterinari incaricati di visite quindicinali alle fattorie, nonchè di ispettori generali e di maestre mungi-vacche.

Il regolamento contiene disposizioni importanti e tassative che riguardano l'alimentazione e manutenzione delle vacche, la mungitura e il raffreddamento del latte, dopo munto, i recipienti e la spedizione del latte dalle fattorie.

Ma tutte le precauzioni anche minuziose non varrebbero certamente ad assienrare un latte puro e soprattutto un latte sano, qualora non fossero validamente sorrette da due disposizioni che formano la base di tutta la sapiente organizzazione:

a) La compagnia, mentre non entra in affari con allevatori che non offrano una garanzia morale sufficiente di osservare stret-

tamente le norme da essa stabilite, e che non posseggano razze scelte e sane di bovini, paga loro il latte ad un prezzo *superiore* a quello che potrebbero ottenere per altra via. In tal guisa il fornitore sa di andare incontro ad una perdita pecuniaria qualora il suo contratto venga rescisso, epperò ha il massimo impegno di soddisfare ai propri doveri.

b) La compagnia mentre obbliga i fornitori ad avvisarla immediatamente qualora una vacca si ammali o qualora si sviluppino casi di malattia infettiva nelle persone addette alla fattoria o nelle loro famiglie, ordinando loro altresì di sospendere, in tali circostanze, l'invio del latte; corrisponde però loro il *prezzo intero* del latte come di consueto, finchè si siano presi, d'accordo con la compagnia, i provvedimenti opportuni per allontanare ogni pericolo di contagio. In tal guisa i fornitori non hanno nessun interesse a tener celati i disgraziati accidenti: se poi risultasse un ritardo nella denuncia, perdono il diritto all'indennizzo.

Il latte spedito dai fornitori si distingue in latte intero, latte semiscremato, crema e latte per bambini. Alla produzione di quest'ultimo presiedono norme speciali, segnatamente in riguardo all'alimentazione delle vacche. Tutto il latte arriva di sera tarda alla stazione di Frederiksberg, sobborgo di Copenhagen, e da qui viene trasportato subito nello stabilimento che è stato costruito appositamente in immediata vicinanza di detta stazione.

Qui si filtrano la sera stessa così la crema come il latte dei bambini: l'una e l'altro, immediatamente dopo, sono chiusi e suggellati in bottiglie di vetro bianco da un quarto di litro, e tenuti in ghiaccio fino al mattino successivo.

Invece, il resto del latte, intero e semiscremato, viene messo subito in ghiaccio per tutta la notte entro i recipienti medesimi nei quali arriva: poscia, al mattino seguente, è filtrato, e versato in altre tinozze di zinco che vengono suggellate e caricate sopra i carri della compagnia. Da questi carri sporgono soltanto le spine delle tinozze, sicchè nè i conduttori nè il pubblico possono avere contatti col latte.

Nello stabilimento medesimo si sono prese tutte le precauzioni possibili perchè il latte non venga contaminato dalle esalazioni, o da altro materiale estraneo proveniente dalla numerosa schiera di operai e da quella non meno trascurabile di cavalli destinati alla trazione dei carri. Una parte della galleria dello stabilimento, che è larga 31 metri, è divisa per metà, formando così due sezioni: in una stanno gli operai, nell'altra sta il latte in ghiaccio dal mo-



mento in cui arriva alla latteria fino a quando viene caricato sui carri.

Gli operai portano una sopravveste intera bianca; e infine la provvista abbondante di acqua fredda assicura la massima pulizia del locale.

Analogamente al provvedimento adottato pei fornitori del latte, la compagnia, nel caso di malattia infettiva in un operaio o nella sua famiglia, lo sospende dal lavoro, ma gli corrisponde il salario intero, fino a pericolo cessato.

Le stalle e le rimesse sono situate in un fabbricato sufficientemente lontano dalla latteria, e come strame viene usata la torba.

La maggior parte del latte della compagnia è venduto dai carri che girano a suon di campanello, per la città e pei sobborghi. La vendita dai carri offre una maggior garanzia di quella delle botteghe, giacchè la prima si compie, per così dire, sotto gli occhi del pubblico. Per maggiore precauzione, il conduttore è obbligato a consegnare una contromarca ad ogni compratore.

Il latte per bambini viene distribuito direttamente a domicilio, ma può anche essere acquistato coll'intermezzo delle farmacie.

Gli allevatori aggregati alla compagnia sono circa cinquanta, che possiedono, fra tutti, quattro o cinque mila vacche.

Il latte venduto negli ultimi anni, ammontava in media a circa 7 milioni di chilogrammi all'anno. Della merce invenduta una parte va agli operai, una parte a scopo di beneficenza, ed una parte a far burro in una sezione dello stabilimento medesimo.

Il latte crudo somministrato nelle condizioni suaccennate è certo il più confacente in ispecie pei bambini lattanti.

In alcuni casi e presso famiglie agiate, ed in condizioni di poterlo fare, si può (com'io feci) consigliare l'acquisto di una vacca, mantenuta e tenuta nei modi sopra esposti, facendo usare per bambini, a cui viene a mancare la balia, il latte crudo, con risultati veramente sorprendenti. Del resto molti pediatri da qualche tempo sono partigiani del latte crudo, che perde, altrimenti preparato, molte delle sue qualità, specie digestive.

### Conservazione del latte.

Per facilitare il trasporto del latte a grandi distanze, per l'uso di esso durante le traversate di mare, e per conservarlo per un certo periodo di tempo anche per gli usi giornalieri, si adottarono parecchi mezzi atti ad impedirne la facile alterazione: fra i quali i seguenti.

RISCALDAMENTO ò BOLLITURA DEL LATTE. — È il mezzo più in uso nelle famiglie, ma come si pratica ha poco valore, necessitando far bollire il latte almeno per 10 minuti se si vuole conservarlo, cosa che non si fa. Se si facesse, coi comuni recipienti, il latte traboccherebbe versandosi sul fuoco, e dando luogo a quello sgradito odore che si spande facilmente nella casa.

Si può evitare quest'inconveniente adottando il *bolli-latte*, specie di cocoma munita di una sporgenza circolare nella parte superiore e di un copercchio, specie di imbuto, forato in modo speciale; quando il latte entra in ebollizione, esce sotto forma di schiuma dal foro centrale, si rovescia sull'imbuto e ritorna nella cocoma pei fori periferici.

Un altro apparecchio più semplice e poco costoso è il *salca-latte* della Casa Ginori, il quale si può applicare a qualsiasi recipiente. È un cono di porcellana con margine inferiore frangiato ed apice aperto e leggermente svasato, che si depone nel centro del recipiente. Quando il latte entra in ebollizione sale nel cavo dell'apparecchio e, giunto all'apice, ricade nel recipiente, e per i fori costituiti dalle frangie del margine inferiore ritorna nel cavo per risalire di nuovo, e così di seguito.

Tanto coll'uno quanto coll'altro mezzo è possibile prostrarre per quanto tempo si crede l'ebollizione del latte senza pericolo che esso si versi nel fuoco; oltre a ciò non richiedesi l'assistenza di alcuna persona durante la bollitura, riuscendo così della massima utilità.

*Metodo di Forster.* — Consiste nel riscaldare il latte per 15 minuti a 65° C. Il latte trattato a questo modo non muta aspetto ed il sapore naturale, ed ha anche il pregio di essere privo di bacilli tubercolari viventi. Amsterdam e Strasburgo adottano il metodo di Forster, che deve essere fatto in grande per diminuire il costo della spesa necessaria.

La città di Strasburgo sopporta essa stessa, verso le madri dei bimbi del primo anno di età e bisognose, la differenza di prezzo che importa il latte così preparato.

Ad Amsterdam si prepara il latte Forster in questo modo: si riempiono con latte freschissimo delle bottiglie da un litro, che poi si tappano con un tappo di gomma e si pongono in un bagnomaria di acqua a 65°, ove restano 25-30 minuti; dopo di che il latte viene levato ed è posto in vendita.

PASTEURIZZAZIONE. — Consiste nel far riscaldare il latte in apparecchi appositi alla temperatura di circa 70° C., poi abbassare la temperatura a 30° o 40°, quindi di nuovo rialzarla a 70°, e ciò per 3 volte di seguito. È un metodo un po' costoso nel mentre non assicura in tutti i casi la distruzione dei bacilli sporigeni.

L'apparecchio che presentiamo (fig. 313) è inteso a diminuire il costo della pasteurizzazione, perchè il latte per riscaldarsi passa in istrato sottile e con lungo percorso a doppio U, in tubo circondato d'acqua bollente sopra un fornello.

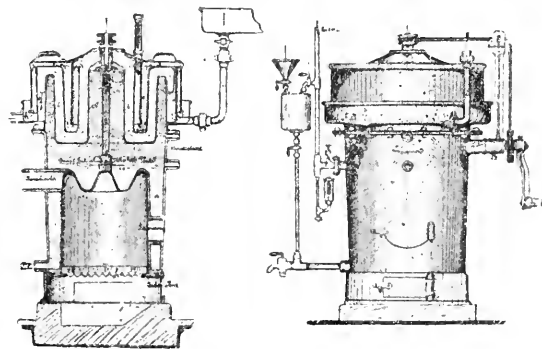


fig. 313. — Apparecchio per la pasteurizzazione del latte.

**STERILIZZAZIONE.** — Per distruggere con sicurezza tutti i microbi contenuti nel latte e renderlo così trasportabile e conservabile per lungo tempo si usa la sterilizzazione la quale viene fatta in modi ed apparecchi diversi, fra cui quello del Timpe è molto in uso.

Tale sterilizzazione del latte si fa in bottiglie, e, in grande, (vedi fig. 314) ed anche in scattole, ed alla temperatura di 100 e più gradi. Certo che quando l'operazione è riuscita bene il latte si conserva inalterato a lungo; soltanto col tempo avviene la separazione della crema che si addensa nella parte superiore della bottiglia.

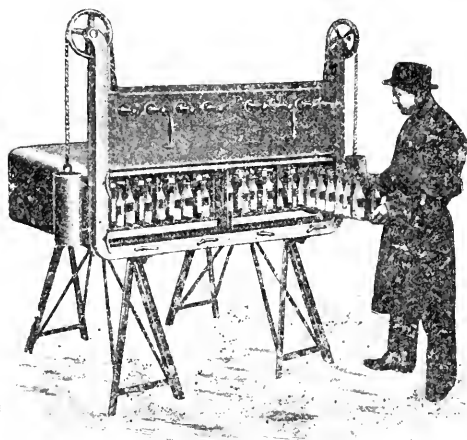


fig. 314. — Apparecchio per la sterilizzazione del latte in bottiglie.

Il Duclaux per il primo, ed altri recentemente, opinano che il latte sterilizzato non sia tanto adatto per i bambini perchè, per l'effetto della elevata temperatura a cui si sottopone il latte, lo zucchero di latte si caramellizza e prende un sapore amaro-gnolo. Söldner aggiunge che i sali solubili precipitano rendendosi insolubili, nel mentre le sostanze albumi-

noidi, la caseina, si coagulerebbe in piccolissimi microscopici fiocchetti; diventando così il latte sterilizzato meno assimilabile, meno nutriente, meno appropriato, in specie pei bambini; anche perchè con tale mezzo i fermenti solubili del latte, di cui abbiamo parlato, vengono distrutti.

La sterilizzazione del latte avrà, d'altra parte, un valore maggiore o minore secondo che verrà fatta subito dopo che il latte è stato munto, o più tardi. La sterilizzazione del latte che arriva da località distanti, senza le precauzioni suaccennate, e quindi già alterato nella sua composizione, non avrà altro scopo che di uccidere i microrganismi, ma non modificherà certo le alterazioni già avvenute nella compagine del latte stesso e per opera di essi. e pur troppo dannose, in particolare, per i bambini.

**OSSIGENAZIONE.** — È fatta pure allo scopo di rendere il latte sterile, ma viceversa poi sembra che ne alteri o modifichi la composizione. Il metodo più semplice consiste nell'aggiungere piccolissima quantità di acqua ossigenata al latte.

**LATTE GAERTNER OD UMANIZZATO.** — Esso offre certo maggiori probabilità di riuscire confacente ai bimbi, per la sua composizione resa quasi eguale a quella del latte di donna, quando il processo sia stato eseguito regolarmente. Esso consiste nell'aggiungere al latte di vacca un volume eguale di acqua distillata, indi nel centrifugarlo portando il grasso alla stessa quantità contenuta nel latte di donna; aggiungendovi infine del lattosio (35 grammi per 1000 di latte). Il latte Gaertner ha per altro gli stessi inconvenienti del latte sterilizzato, perchè viene assoggettato, dopo la preparazione, alla sterilizzazione.

**CONDENSAZIONE.** — Il latte condensato serve specialmente per le traversate di mare. Ve ne ha con zucchero e senza zucchero.

Il processo consiste nell'ottenere coll'ebollizione, in apparecchi appositi (vedi fig. 315). l'evaporazione di quasi tutta l'acqua contenuta nel latte sino a

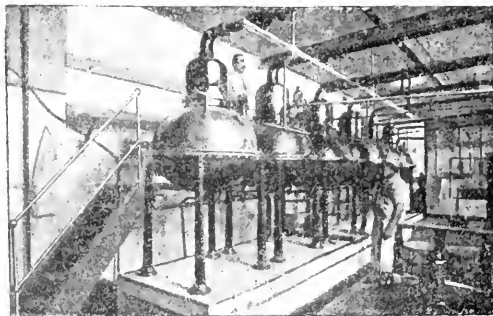


fig. 315. — Apparecchi per la condensazione del latte.

riduzione di un denso sciroppo che si mette in scatole di latta cilindriche, le quali vengono chiuse e saldate ermeticamente. Il contenuto è di color bianco-paglierino nel latte condensato con zucchero, di consistenza pastosa, filamentoso, di sapore dolcissimo; esso, stemperato con 4, 4<sup>1</sup>, volte il suo peso in acqua tiepida, dà un liquido lat-

tiginoso omogeneo, dolce, di gusto gradevole; ed abbandonato a sè per alcun tempo lascia separare uno strato di crema suscettibile di essere trasformata in burro.

**CONGELAZIONE.** — L'Australia e la Danimarca hanno fatto dei tentativi di trasporto del latte mercè il congelamento di esso in grossi blocchi di uno a due ettolitri. Questi blocchi di latte ghiacciato vengono messi in casse di zinco, e queste alla loro volta in casse di legno o di sughero, e trasportate così a grandi distanze e perfino in Inghilterra. Il congelamento del latte non è però uniforme, il latte magro congela uniformemente mentre la crema congela a parte da sè nello strato superiore. Scongelandosi il detto latte, la parte grassa resta sempre separata dal resto, costituendo ciò un grave inconveniente, che ne ha ostacolata l'importazione.

**FARINE LATTEE.** — Sono in generale mescolanze di latte, condensato con farine di cereali e leguminose, che si impiegano nell'alimentazione dei bambini come succedanei, in tutto od in parte, del latte materno. Le farine adoperate hanno subito una preparazione speciale, destinata a rendere solubile l'amido (*saccarificazione*).

Talvolta la saccarificazione è appena parziale, tale altra manca del tutto, e gli idrati di carbonio della sostanza risultano quasi esclusivamente di amido grezzo; in questo caso il prodotto è affatto inservibile per l'alimentazione dei bambini di pochi mesi di vita, perchè il loro organismo non contiene ancora alcun fermento solubilizzatore.

Una buona farina lattea deve contenere una quantità di sostanze azotate, di grasso e di fosfati sufficiente al ricambio sostanziale o materiale, ed alla costituzione dell'organismo, essenzialmente dei muscoli e delle ossa; deve presentare la massima parte dei carboidrati in forma solubile e non contenere più di 1 per 100 di geroso.

### Latticini e loro ispezione.

Tutte le prescrizioni che abbiamo indicato per la raccolta, il trasporto e la momentanea conservazione del latte devono essere osservate anche quando il latte stesso, anzichè venire consumato come tale, lo si adopera per la preparazione dei latticini (crema, burro, formaggi). E ciò non soltanto perchè i latticini potrebbero altrimenti alterarsi e riescire nocivi alla salute dei consumatori, ma ancora per non pregiudicare la fabbricazione dei latticini stessi con inquinamenti di microbi estranei che distruggono quelli normali del latte, i quali ultimi sono indispensabili per la perfetta maturazione dei formaggi.

Un metodo per avere della crema pura per uso di alimentazione, è quello che risulta dall'unità fig. 316. Il latte viene fatto salire in un recipiente da cui

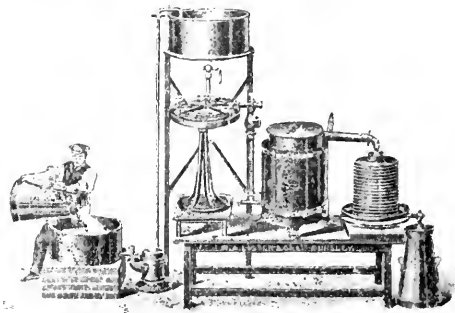


fig. 316. — Pasteurizzazione e successivo raffreddamento della crema.

passa in una scrematrice e poi in un pasteurizzatore, da questo in un refrigerante Schmidt e quindi in un bidone asettico.

In Danimarca perchè il burro si conservi a lungo senza alterarsi, viene fabbricato coi fermenti selezionati, immettendoli nella crema precedentemente pasteurizzata e quindi burrificando questa. Il sistema danese si è esteso ovunque

ed anche in Italia. Con questo sistema l'Australia manda sul mercato di Londra gran quantità di burro (trasportato con apparecchi refrigeranti) facendo concorrenza ai prodotti europei.

In commercio si ha anche la crema sterilizzata delle Alpi.

Dalla fabbricazione del formaggio grasso (fatto con latte intero) si estrae il cosiddetto *burro bianco* o di siero, ottimo e che si conserva per molto tempo.

Al burro naturale si unisce talvolta del burro di margarina o altre sostanze grasse per la ricerca delle quali vedi pag. 615.

I burri irrandiscono facilmente quando nella loro preparazione non siano state adottate tutte le misure della massima pulizia, o quando nell'impastamento non si sia levato tutto il latticello, ecc.

Nei burri naturali, e più ancora in quelli margarinati, si sono trovati i bacilli della tubercolosi e quelli della pseudo-tubercolosi, e del carbonchio, con trasmissione, in quest' ultimo caso, della malattia all'uomo.

I burri fabbricati accuratamente con crema, estratta da latti sani, si possono trasportare a distanze, per essere consumati allo stato fresco, coi vagoni refrigeranti che servono anche per il trasporto di altre sostanze alimentari come la carne, le uova, il pollame, ecc.: si usa anche salarlo (nella proporzione del 5 %) e metterlo ben compresso in scatole metalliche, chiuse poi ermeticamente. Infine si fa anche fondere, e, dopo fuso, si riempiono delle *boites* che si chiudono col solito metodo di Appert.

L'ispezione dei burri si rende indispensabile, anche per quelli destinati all'esportazione, onde impedire eziandio le frodi che deprezzano questo importante nostro prodotto all'estero.

Noi abbiamo ora in Italia delle latterie sociali nelle quali si fabbrica esclusivamente il burro, ed il latte magro rimasto si adopera per l'allevamento e l'ingrassamento dei vitelli e dei suini, ovvero lo si mescola con oleomargarina e si fanno dei formaggi margarinati di basso prezzo che si consumano all'interno. Queste latterie sociali, ed altre che pur non essendo sociali lavorano grandissime quantità di latte, non vanno di solito soggette ad ispezioni di sorta, mentre lo dovrebbero essere per le ragioni suindicate.

Anche la preparazione degli altri latticini e dei formaggi, in ispecie di quelli cosiddetti molli o da tavola, deve essere soggetta ad ispezione igienico-sanitaria; inquantochè, consumati questi prodotti freschi, possono essere in grado di riescire nocivi se fatti con latte alterato, inquinato da germi infettivi, provenienti o dall'animale che l'ha fornito, o capitati durante le manipolazioni successive, o infine perchè mescolati con altre sostanze eterogenee (v. pag. 41 e 605).

Meno facile è il trovare nocivi i cosiddetti formaggi o caci duri, sia per la loro preparazione a temperatura più elevata, sia per il lungo processo di maturazione, durante, e per, il quale anche microrganismi patogeni muoiono.

Le principali cause delle alterazioni dei formaggi sono: latte cattivo, qualità delle erbe e foraggi, quantità del presame o caglio, cottura imperfetta, cattiva stagionatura in locali umidi o troppo caldi, qualità delle sostanze grasse per ungere i formaggi, ecc. Si aggiunga la presenza di muffe, o di microrganismi che danno luogo ad un energico sdoppiamento del lattosio donde grande sviluppo di acido carbonico che gonfia e fa scoppiare il formaggio, o che rendono amaro il formaggio stesso, o lo colorano in verde, in azzurro, in rosso, in nero, o in giallo, provocando in quest'ultimo caso il cosiddetto marciume o gangrena del formaggio.

I formaggi duri vengono attaccati da un acaro, *acarus siro*, che si annida nella crosta consumando la pasta per intero; quelli molli dalle uova e larve della mosca del formaggio, *piofila casei*, larve biancastre e saltellanti.

Inoltre i formaggi vengono falsificati mercè l'aggiunta di farine, patate, creta, grassi di animali; o colorati con bicromato di potassa, minio, giallo vittoria, ecc., e possono contenere rame, piombo ed altre sostanze venefiche, per le quali sofisticazioni vedi pag. 626.

Ad impedire tutte le frodi commerciali sopra indicate, l'America del Nord, con una recente legge, stabilì, molto opportuna-

mente, che tutti i prodotti importati siano, prima di essere introdotti, sottoposti ad analisi, respingendo quelli che non sono genuini, o non corrispondono perfettamente al titolo indicato.

È un provvedimento che, sotto l'egida igienico-sanitaria, nasconde forse un protezionismo economico; ma sarebbe bene che venisse ovunque adottato per la difesa dagli speculatori disonesti, i quali, nel mentre attentano alla salute dei consumatori, danneggiano i negozianti onesti e l'economia nazionale.







UNIVERSITY OF CALIFORNIA LIBRARY

Los Angeles

This book is DUE on the last date stamped below.

---

