

ANNALI DI MICROBIOLOGIA

RACCOLTA DI MEMORIE DI MICROBIOLOGIA GENERALE ED APPLICATA
ALL'AGRICOLTURA, ALLE INDUSTRIE FERMENTATIVE ED ALIMENTARI

A CURA DEI PROFESSORI

T. CASTELLI PERUGIA - V. PEGLION BOLOGNA - B. PEYRONEL TORINO
S. RICCARDO NAPOLI - M. SACCHETTI BOLOGNA - O. VERONA FIRENZE

DIRETTA DA

C. ARNAUDI MILANO

OTTOBRE 1941 -XIX
VOL. I – FASC. VI

ORGANO DELLA STAZIONE SPERIMENTALE
DI BATTERIOLOGIA. AGRARIA DI CREMA

DIREZIONE ED AMMINISTRAZIONE: MILANO VIA CELORIA 2

NORME DI COLLABORAZIONE

Si accettano memorie originali italiane e straniere, purchè scritte in caratteri latini e dattilografate. Esse devono essere perfettamente corrette anche nella punteggiatura.

In ottemperanza alle disposizioni del Consiglio Nazionale delle Ricerche ogni articolo deve essere corredato da un breve riassunto (non più di dieci linee) in italiano. Lo stesso deve essere pure riportato in inglese o tedesco. Se l'Autore non ne fa l'invio in una delle due lingue verrà provveduto d'ufficio alla traduzione e la spesa relativa verrà addebitata ai signori autori.

Agli Autori dei lavori originali vengono concesse non più di 16 pagine di stampa; il numero di pagine in più sarà a carico dell'Autore al puro costo di stampa. Le modificazioni tipografiche che non siano semplici correzioni di errori di composizione saranno addebitate agli Autori a prezzo di costo.

I clichés, le tabelle e le tavole fuori testo sono a carico degli Autori.

Per ogni lavoro verranno concessi 50 estratti gratuiti; per un maggior numero gli Autori dovranno accordarsi direttamente con la Tipografia.

Per la bibliografia si prega di attenersi alle seguenti norme:

a) La bibliografia, col relativo numero di riferimento, deve essere scritta alla fine del lavoro; b) I numeri di riferimento bibliografico nel testo devono essere scritti tra parentesi; c) Le citazioni devono essere fatte nel seguente ordine: 1° Nome dell'Autore; 2° Titolo del lavoro; 3° Titolo del giornale abbreviato; 4° Anno; 5° Volume (in numero arabo, sottolineato); 6° N° delle pagine.

Il numero di chiamata nel testo di eventuali note a piè di pagina deve essere scritto in alto piccolo e con una parentesi di chiusura.

Per i numeri decimali adoperare virgole e mai punti, così nel testo come nelle tabelle.

Adoperare sempre le seguenti abbreviazioni:

chilogrammo = Kg	metro = m	centim quadr = cmq	minuto se- condo = sec
ettogrammo = hg	decimetro = dm	millim quadr = mmq	
grammo = g	centimetro = cm		per cento = $\frac{0}{100}$
Jecigrammo = dg	millimetro = mm	litro = l	per mille = $\frac{0}{1000}$
centigrammo = cg	micron = μ	centimet cubo = cc	normale = N
milligrammo = mg		ora = h	decimo norm = O, IN
millesimo di grammo = γ	metro quadr = mq	minuto primo = min	ph, Ph ecc = pH
	(*utti questi segni sempre senza punto)		

Le formule chimiche devono essere scritte con gli indici in basso. Es. CaCl_2 .

S O M M A R I O

TOMMASO CASTELLI - Indagini chimiche sui blastomiceti	pag. 269
P. RENCO - Studio critico sui metodi per la ricerca del gruppo Coli-aerogenes nel latte	» 275
Indice analitico	» 297
Indice degli autori	» 308

Prezzo di Abbonamento per ogni volume (costituito di 6 fascicoli)
ITALIA L. 50 - ESTERO L. 100 - UN FASCICOLO SEPARATO L. 10

ANNALI DI MICROBIOLOGIA

RACCOLTA DI MEMORIE DI MICROBIOLOGIA GENERALE ED APPLICATA
ALL'AGRICOLTURA, ALLE INDUSTRIE FERMENTATIVE ED ALIMENTARI

A CURA DEI PROFESSORI

T. CASTELLI PERUGIA - V. PEGLION BOLOGNA - B. PEYRONEL TORINO
S. RICCARDO NAPOLI - M. SACCHETTI BOLOGNA - O. VERONA FIRENZE

DIRETTA DA

C. ARNAUDI MILANO

VOL. I - 1940-1941 (XVIII- XIX)

ORGANO DELLA STAZIONE SPERIMENTALE
DI BATTERIOLOGIA AGRARIA DI CREMA

DIREZIONE ED AMMINISTRAZIONE: MILANO VIA CELORIA 2

INDICE DELLE MEMORIE

PAGINA

C. A. - Presentazione	
T. Castelli - Ricerche sul Kos albanese	3
I. Politi - I processi di acidificazione dei foraggi insilati	15
G. Pepoli - Ricerche sulla lievitazione panaria	33
L. Piazza - L'acetil-metil-carbinolo nei foraggi insilati	45
S. Riccardo - Sulle variazioni quantitative dei microrganismi del terreno coi vari metodi di conta	49
I. Politi - Ricerche sui fermenti lattici	65
E. Corberi - Osservazioni sulle variazioni della microflora del latte della provincia di Milano	85
C. Arnaudi - Alcuni aspetti della vita microbica del terreno	97
C. Arnaudi - Domenico Carbone (Necrologio)	113
C. Antoniani - A. Candia - T. Castelli - Contributi alla conoscenza del chimismo fermentativo dei lieviti apiculati	117
T. Castelli - A. Simoni - Ricerche sul Laghbi tripolino	123
M. Mazzeo - G. Marinelli - Sull'autodepurazione degli ortaggi	139
C. Arnaudi - E. Corberi - H. Soares Rodrigues - Ricerche microbiologiche sui formaggi molli italiani	153
Notiziario e attualità di laboratorio (I. Politi)	175
I. Politi - G. Pepoli - Ricerche sui foraggi insilati	177
E. Bernelli - Ricerche sperimentali sulla batteriologia del burro nei riguardi dell'infezione tubercolare	192
T. Castelli - Considerazioni sulla coltivazione della soja	202
Notiziario e attualità di laboratorio (I. Politi)	210
I. Politi - Ricerche sui fermenti lattici (Nota II)	213
O. Verona - Sulla presenza di Protozoi nelle colture di microbi cellulolitici	225
E. Emiliani - Sulla fermentazione alcoolica del succo di sorgo zuccherino	228
O. Verona - Due nuove specie di cellulolitici aerobi	235
S. Riccardo - Sulla macerazione biochimica della « <i>Ampelodesma mauritanica</i> » Dur. e Schinz, e sull'azione dei microbi alcali tolleranti nella preparazione di paste cellulistiche	240
T. Castelli - Indagini chimiche sui blastomiceti	269
P. Renco - Studio critico sui metodi per la ricerca del gruppo <i>Coli-aë-rogenes</i> nel latte	275

**BANCA
COMMERCIALE
ITALIANA.**

CAPITALE L. 700.000.000

RISERVA L. 165.000.000

BANCA DI INTERESSE NAZIONALE

Indagini chimiche sui blastomiceti

Prof. Tommaso Castelli

(Ricevuto il 15 luglio 1941-XIX)

È notoria l'importanza che i caratteri biochimici hanno nello studio di identificazione dei microrganismi in genere e dei blastomiceti in particolare. Detti caratteri sono però considerati generalmente soltanto dal punto di vista qualitativo tralasciando pressochè completamente la parte quantitativa. Ciò è perfettamente logico allorchè si consideri l'argomento in senso naturalistico e forse anche da un punto di vista pratico in quanto che molto spesso il microbiologo è chiamato a dare una rapida diagnosi e pertanto egli deve seguire dei procedimenti di tecnica ben definiti e per quanto possibile semplici.

È anche nota l'aspirazione di ogni onesto ricercatore sull'unificazione dei procedimenti tecnici da adottare e sulla sistematica da seguire. Se per alcuni gruppi di schizomiceti, in particolare, ancora si è ben lungi da un vero accordo tra gli studiosi, per quanto riguarda i blastomiceti, per lo meno per gli sporigeni che comprendono le forme più interessanti dal punto di vista tecnico ed industriale, si può affermare con compiacimento che questo accordo è quasi completamente raggiunto. Oggi infatti i procedimenti di studio dei blastomiceti elaborati dalla Stelling-Dekker (1) e dalla Lodder (2) sono, possiamo dire, universalmente seguiti con evidente vantaggio sia dei ricercatori come del progresso scientifico. Ma i caratteri biochimici così determinati ben poco ci dicono allorchè noi consideriamo un lievito non dal punto di vista naturalistico ma da quello applicativo ed industriale. Noi sappiamo in proposito che nettissime differenze esistono tra specie e specie, tra le singole varietà e forse nei singoli individui. Basta allo scopo pensare all'industria della birra ove i più diversi tipi di questa bevanda vengono ottenuti anche dall'impiego di alcune particolari razze di lievito appartenenti tutte però ad una medesima specie; il Sacch. cerevisiae Hansen. Tutti sanno anche quanto numerosi siano i lavori di ogni genere comparsi sul Sacch. cerevisiae e quali evidenti benefici ha tratto da essi l'industria della birra. Per quanto riguarda l'industria enologica sia per ciò che interessa la conoscenza delle forme che più facilmente e con particolare frequenza si isolano dai mosti in fermentazione, e che pertanto si debbono ritenere gli agenti responsabili del processo, come per quanto riguarda l'intima conoscenza del chimismo di dette forme, è d'uopo riconoscere che poco si è fatto in proposito e quel poco non è affatto coordinato. Nei principali paesi vinicoli sono stati eseguiti lavori spesso interessanti ma non ricerche sistematiche e ben coordinate e pertanto l'utilità che l'industria enologica ha potuto trarre da questi studi è stata ben relativa. Ciò che affermo non è soltanto una mia convinzione, mi piace anzi riportare quanto scrisse il compianto prof. G. Paris a pagina 191 del suo trattato, fin dal 1931: « Se gli studi di chimica applicata all'enologia sono da noi molto sviluppati, non si può dire

altrettanto di tutto quanto riguarda la conoscenza dei germi che fanno fermentare i nostri mosti. Rivolgendo l'attenzione a questo ramo della scienza agraria, la tecnica enologica se ne potrebbe molto giovare ». Ben differente è, come tutti sanno, la birra dal vino e mentre per la birra è facile ottenere dei tipi ben caratterizzati e costanti poichè sia il materiale che fermenta, come il lievito che si adopera in qualità e in quantità, come i procedimenti tecnici sono ben definiti, per il secondo le caratteristiche variano di anno in anno principalmente con la materia prima che deve fermentare e cioè del mosto d'uva. Altra considerazione fondamentale è che mentre la produzione della birra è una vera industria e pertanto in essa cooperano chimici e tecnici, la produzione del vino, nella sua grande maggioranza, è un'industria svolta dall'agricoltore. È molto probabile però che dallo studio sia naturalistico come chimico delle forme di lievito che con particolare frequenza si isolano dai mosti in fermentazione nelle singole regioni italiane, grande giovamento ne potrà trarre l'industria enologica.

Con questo intendimento sono state iniziate fin dal 1933, nel Laboratorio di microbiologia agraria e tecnica, ricerche sistematiche sugli agenti della fermentazione vinaria nelle diverse regioni italiane. Nel 1935 è apparsa infatti la relazione di De' Rossi (3) sui lieviti della regione umbra, a detto lavoro sono seguite le mie ricerche (4), (5) sugli agenti della fermentazione vinaria nel Chianti classico e zone limitrofe e quelle, di prossima pubblicazione, di Santarelli (6) sugli agenti della fermentazione vinaria nella zona dei colli romani. Presentemente in laboratorio si stanno eseguendo indagini su mosti prelevati nell'Orvietano e nel Viterbese.

Nella presente nota si riferiscono delle indagini chimiche condotte su una serie di blastomiceti della collezione del laboratorio e isolati dai materiali più vari. Dette ricerche si possono considerare come di introduzione ad altre che seguiranno e che saranno condotte esclusivamente su blastomiceti isolati da mosti d'uva in fermentazione e dove l'indagine sarà rivolta essenzialmente alle eventuali differenze di alcuni costituenti chimici di liquidi fermentati da blastomiceti posti in varie condizioni d'ambiente (temperatura - mosti di diversa origine e di diversa costituzione chimica). La finalità di queste ricerche è quella di indagare se tra i numerosi stipiti che si saggeranno riuscirà possibile individuare farnie che presenteranno particolari caratteristiche quali ad esempio la capacità a fermentare bene a temperature relativamente basse o elevate, ad agire bene in mosti con vario contenuto in zucchero e con varia acidità. È, in poche parole, il da tempo invocato lavoro sulla selezione dei lieviti che ha per scopo finale la possibilità di poter fornire agli agricoltori degli stipiti di saccaromiceti adatti per una regolare fermentazione dei mosti nelle diverse condizioni ambientali delle singole zone italiane. Lavoro lungo, non facile, è dunque quello al quale ci siamo accinti, ma l'importanza pratica dell'argomento è talmente evidente che ci servirà di sprone per sorpassare le varie difficoltà che incontreremo nella lunga ricerca. Non è scopo di questi lavori l'indagine dell'utile impiego di particolari lieviti per la vinificazione di

vini fini e speciali, nè tanto meno il riaccendere la polemica sorta a proposito delle mie ricerche sugli agenti della vinificazione nel Chianti classico tra i proff. Paulsen, Carpentieri e il sottoscritto (7). Sta di fatto però che mentre per l'ottenimento di vini particolarmente pregiati non sappiamo se sia bene lasciare fermentare il mosto naturalmente o impiegare lieviti puri, ben diversamente vanno le cose per la vinificazione dei vini comuni da pasto. Per l'ottenimento di questi ultimi vini e principalmente per garantire una regolare fermentazione alcoolica tutti sono d'accordo ormai sull'utilità dell'impiego dei lieviti puri e particolarmente di mettere in opera detta pratica nelle annate di cattivo andamento stagionale e di invasioni crittogamiche. Del tutto recentemente è apparsa una breve nota riassuntiva sullo stesso argomento da parte di Mensio, C. Tarantola e G. Tarantola (8) di un lavoro presentato al V Congresso della vite e del vino a Lisbona nel 1838 e non ancora comparso in Italia. In attesa di conoscere per esteso l'interessante lavoro di Mensio e collaboratori non credo sia possibile condividere pienamente ciò che si è affermato.

In questa nota che può ritenersi come introduttiva e alla quale seguirà tra breve il risultato dell'azione della temperatura sul chimismo dei lieviti isolati da mosti d'uva, sono riferite alcune analisi chimiche condotte su liquidi fermentati ottenuti inoculando uno stesso mosto con 27 diversi stipiti di blastomiceti.

La tecnica seguita è stata la seguente. Tutti gli stipiti sono stati seminati sul medesimo mosto d'uva bianca zuccherato, filtrato e sterilizzato. Il mosto, che conteneva il 26 % di zucchero e 13 grammi per litro di acidità totale espressa come acido tartarico, venne posto in ragione di 200 cc in matracci della capacità di 250 cc. Ogni matraccio venne seminato con un'ansata di patina microbica di 3 giorni a 30° sviluppata su agar di malto e fu tenuto per un mese in ambiente a temperatura media di 18°.

Le analisi chimiche eseguite furono le seguenti:

- a) determinazione del grado alcolico per distillazione;
- b) determinazione dell'acidità totale;
- c) determinazione dell'acidità volatile;
- d) ricerca dell'acetoina.

I procedimenti analitici usati per le tre prime determinazioni sono quelli stabiliti dalla Commissione tecnica per gli studi relativi alla viticoltura e alla enologia (9), per l'acetoina è stato seguito il metodo indicato da L. C. E. Kniphorst e C. J. Krnisher (10).

Nella sottostante tabella sono riassunti i risultati ottenuti; in essa in una prima colonna è riportato il numero dello stipite secondo le indicazioni della collezione del laboratorio, nella seconda viene riportata la specie e nella terza l'ambiente da dove lo stipite venne isolato e l'anno d'isolamento; nelle altre colonne sono riuniti i valori dell'alcol espresso come % in volume, dell'acidità totale come grammi di acido tartarico per litro, dell'acidità volatile come grammi di acido acetico per litro; infine per l'acetoina il segno — ne indica l'assenza mentre i segni + ne indicano la presenza più o meno abbondante.

Stipite	Specie	Ambiente ed anno d'isolamento	Alcol	Ac. totale	Ac. volatile	Acetoina
20	Sacc. ellipsoideus	Mosto d'uva 1933	15,42	10,42	0,75	—
1	Sacc. ellipsoideus	Mosto d'uva 1909	12,00	10,70	1,15	—
364	Sacch. ellipsoideus var. major	Mosto d'uva 1936	10,70	10,60	1,04	—
40	Sacc. ellipsoideus var. umbra	Mosto d'uva 1933	11,56	10,56	0,97	—
407	Sacch. carls. var. valdensis	Laghbi tripolino 1939	11,40	11,30	0,63	—
408	Sacch. carls. var. monacensis	Laghbi tripolino 1939	11,70	10,60	0,54	—
386	Sacch. Pastorianus	Mosto d'uva 1936	9,60	10,85	0,51	—
366	Sacch. uvarum	Mosto d'uva 1936	11,60	10,55	0,67	+
404	Sacch. laghbi	Laghbi tripolino 1939	7,70	11,10	1,90	++
373	Sacch. exiguus	Mosto d'uva 1936	9,30	11,10	1,88	—
363	Sacch. italicus	Mosto d'uva 1936	10,16	10,60	1,21	—
L. 59	Sacch. Rouxi	Acqua di vegetazione olive 1938	8,86	10,22	0,91	—
403	Sacch. oviformis var. bisp.	Mosto d'uva 1938	4,32	10,00	0,36	—
56	Sacch. des Ludwigii	Mosto d'uva 1936	9,05	10,85	1,18	++++
406	Schizosacch. Pombe	Laghbi tripolino 1939	10,06	10,15	1,07	+++
54	Hansenula sp.	Lievito di pane 1933	3,64	10,00	0,38	—
52	Hansenula nivea	Lievito di pane 1933	3,90	10,00	0,60	—
51	Hansenula panis	Lievito di pane 1933	4,00	10,30	0,23	—
166	Debaryomyces sp.	Prosciutto 1935	0,50	9,70	0,13	—
70	Pseudosacch. apiculatus	Mosto d'uva 1933	5,72	9,85	1,03	+
103	Pseudosacch. magnus	Mosto d'uva 1933	9,30	9,80	0,80	++++
118	Torulopsis lactis	Chefir 1931	3,36	10,15	0,38	—
113	Torulopsis pulcherrima	Mosto d'uva 1933	3,90	9,85	0,23	—
L. 5	Torulopsis Holmii	Acqua di vegetazione olive 1938	3,64	9,85	0,40	—
134	Mycotorula albicans	Lievito di pane 1933	4,60	10,15	0,34	—
L. 13	Trichosporon sp.	Acqua di vegetazione olive 1938	2,14	10,80	0,56	—
149	Sporotrichum Carougeaui	Lievito di pane 1933	3,36	9,85	0,18	—

I risultati analitici esposti nella tabella confermano una serie di fatti. Così viene ribadita la più volte segnalata notevole produzione di alcol da parte delle specie del genere *Saccharomyces*; tra queste il valore massimo è stato riscontrato per uno stipe di *Saccharomyces ellipsoideus* mentre il valore minimo è stato fornito dalla varietà *bisporus* del *Saccharomyces oviformis*. Tra le altre saccaromicetacee quantità elevate di alcol vengono formate dallo *Schizosaccharomyces Pombe* e dal *Saccharomyces Ludwigii*, mentre quantità molto basse da specie del genere *Hansenula* e da una specie del genere *Debaryomyces*. I lieviti apiculati piccoli da riportarsi alla specie *Pseudosaccharomyces apiculatus* Klocker producono quantità basse di alcol mentre quantità discrete vengono fornite dal *Pseudosaccharomyces magnus*. Infine per quanto riguarda le specie da riportarsi ai generi *Torulopsis*, *Mycotorula*, *Sporotrichum* e *Trichosporon*, l'alcol formato appare in quantità assai modesta.

La produzione di acidità volatile appare assai varia nei diversi stipiti; essa è assai bassa nelle specie dei generi *Torulopsis*, *Mycotorula*, *Trichosporon* e *Sporotrichum*. Nei lieviti apiculati l'acidità volatile è relativamente bassa nel *Pseudosacch. magnus* e molto più elevata nel *Pseudosacch. apiculatus*. Tra le saccaromicetacee è bassa nelle specie appartenenti ai generi *Hansenula* e *Debaryomyces* ed elevata nel *Saccharomyces Ludwigii* e nello *Schizosaccharomyces Pombe*. Nel genere *Saccharomyces* si notano specie come il *Sacch. oviformis* e il *Sacch. Pastorianus* che producono quantità molto basse di acidità volatile mentre elevate quantità vengono prodotte dal *Sacch. laghbi* e dal *Sacch. exiguus*. Tra le forme da riportare al *Sacch. ellipsoideus*, o a varietà di esso, le quantità di acidità volatile fornite appaiono fortemente diverse; relativamente bassa nello stipe 20, che è un tipico *Sacch. ellipsoideus*, e discretamente più elevata sia nella varietà *umbra* come nella varietà *major*.

Si è notato che i valori dell'acidità volatile sono apparsi in genere elevati, occorre in proposito però tener presente che il mosto era molto zuccherino e che altri autori, tra i quali ricordo Salvarezza (11), hanno visto che l'acidità volatile è tanto più grande per quanto più elevato è il tenore zuccherino del mosto. L'acetoina è stata riscontrata presente in 6 su 27 campioni esaminati.

Che possa sussistere una correlazione tra produzione di acidità volatile e acetoina, come è stato dimostrato in alcune esperienze precedenti (12), appare probabile, pur non verificandosi in modo costante. Così infatti l'acetoina si è riscontrata nel campione di mosto fermentato dal *Sacch. laghbi* ove si è trovata la massima produzione di acidità volatile e nei campioni fermentati dal *Saccharomyces Ludwigii*, *Schizosaccharomyces Pombe* e *Pseudosaccharomyces apiculatus* ove le quantità di acidità volatile erano notevoli. L'acetoina è stata poi riscontrata scarsamente nel campione fermentato dal *Sacch. uvarum* ove la produzione di acidità volatile è stata molto scarsa e infine nel campione fermentato dal *Pseudosacch. magnus* accanto a quantità molto modeste di acidità volatile corrispondono forti quantità di acetoina. Occorre poi anche notare che nel campione fermentato dal *Sacch. exiguus* di fronte a quantità molto forti di acidità volatile formate, l'acetoina non è stata riscontrata nemmeno in traccia.

Un fatto appare ben stabilito e cioè che nei liquidi fermentati ove la quantità di acidità volatile è molto scarsa, l'acetoina non si riscontra. Pertanto non si

può stabilire, in senso assoluto, che esista una costante correlazione tra produzione di acidità volatile ed acetoina, pur notandosi in maniera evidente che quest'ultima si ricontra, generalmente, nei liquidi che presentano forti quantità di acidità volatile.

È molto probabile che la produzione di acetoina possa venire influenzata, come d'altronde tutto il chimismo dei lieviti, anche dalla natura del mezzo in cui i blastomiceti sono posti e forse principalmente delle temperature alle quali i lieviti si pongono ad agire. Ricerche già eseguite in proposito e che verranno pubblicate tra brevissimo tempo, sembrano avvalorare questo punto di vista.

RIASSUNTO

Sono state eseguite ricerche chimiche su liquidi completamente fermentati ottenuti seminando uno stesso mosto d'uva con 27 stipiti di blastomiceti isolati dagli ambienti più vari. Viene messo in rilievo il fatto che generalmente si è constatata una certa correlazione tra produzione di acidità volatile ed acetoina.

ZUSAMMENFASSUNG

An vollständig vergährten Flüssigkeiten die durch Beimpfung eines Traubenmostes mit 27 Blastomyceten-Stämmen erhalten wurden, sind chemische Untersuchungen angestellt worden. Im allgemeinen war ein gewisses Verhältnis zwischen flüchtiger Azidität- und Acetoin-Bildung zu beobachten.

BIBLIOGRAFIA

- (1) *Stelling-Dekker*. - Die Sporogenen Hefen. «Uitgave De Koninklijke Akad Van Wetenschappen Te Amsterdam», 1931.
- (2) *Lodder*. - Die Anaskosporogenen Hefen. «N. V. Noord-Hollandsche Uitgeversmaatschappij», Amsterdam, 1934.
- (3) *De' Rossi*. - I lieviti della fermentazione vinaria nella regione umbra. «Rel. al IV Congr. Int. della vigna e del vino». Lausanne, 1935.
- (4) *Castelli*. - I lieviti della fermentazione vinaria nel Chianti classico e zone limitrofe. «Nuovi Annali dell'Agricoltura», XIX, 1939.
- (5) *Castelli*. - Ancora sui lieviti della fermentazione vinaria nel Chianti classico - «Nuovi Annali dell'Agricoltura», XIX, 1939.
- (6) *Santarelli*. - I lieviti della fermentazione vinaria nella zona dei colli romani. Di prossima pubblicazione.
- (7) *Paulsen-Carpentieri-Castelli*. - In tema di fermenti alcoolici. «Il Colt. e Gior. Vinicolo Ital.», N.° 6, 7, 9, 13, anno 86-1940.
- (8) *Mensio-C. Tarantola-G. Tarantola*. - Osservazioni sull'impiego dei fermenti selezionati e dell'anidride solforosa nella vinificazione. «Il Colt. e Gior. Vinicolo Ital.» N.° 8, 9, anno 87-1940.
- (9) *Mini. Agric. e Foreste*. - Ricerche da eseguirsi sulle uve, sui mosti e sui vini a scopo ampelografico. «Roma, Tip. Fed. Ital. Cons. Agr., 1933».
- (10) *Antoniani-Candia Castelli*. - Contributi alla conoscenza del chimismo fermentativo dei lieviti apiculati. «Annali di Microbiologia», vol. 1-3-1941.
- (11) *Salvarezza*. - L'acidità volatile dei vini nel corso della fermentazione. «L'Italia Agricola», N.° 2, 1937.
- (12) Vedi N.° 10.

Studio critico sui metodi per la ricerca del gruppo *Coli-aerogenes* nel latte

Dott. P. RENCO

(Ricevuto il 28 Maggio 1941-XIX)

PRESENZA ED ORIGINE DEL GRUPPO COLI-AEROGENES NEL LATTE

Al gruppo *Coli-aerogenes* appartiene quella numerosa schiera di schizomiceti a forma di bastoncino, mobili od immobili, Gram-negativi, asporigeni, non cromogeni, aerobi facoltativi che fermentano glucosio e lattosio con produzione di acidità e di gas.

La loro presenza nel latte crudo del mercato è indiscutibile sia questo destinato all'uso industriale o all'alimentazione.

Nella classificazione di Bergey (6) i microbi del gruppo *Coli-aerogenes* sono compresi nella famiglia delle *Bacteriaceae* sotto i generi *Escherichia* ed *Aerobacter*.

Escherichia. Bastoncini mobili ed immobili che si riscontrano comunemente nell'intestino di animali normali. Attaccano numerosi idrati di carbonio con formazione di acidi e frequentemente di acidi e gas. Non producono acetilmetilcarbinolo. Vi appartengono 29 specie.

Aerobacter. Bastoncini mobili od immobili comunemente presenti nell'intestino di animali normali. Producono acetilmetilcarbinolo. Vi appartengono 6 specie.

Assai comune e particolarmente adottata nel campo lattiero è la distinzione in *Bac. coli* (o anche *Escherichia coli*) e in *Bact. aerogenes* (od anche *Aerobacter aerogenes*) con tutti i numerosi ceppi tipici od atipici comprendenti anche i termini di passaggio tra l'uno e l'altro. Detta distinzione ha un particolare valore dal punto di vista igienico inquantochè il *Bac. coli* viene considerato come un germe di origine prettamente fecale, mentre il *Bact. aerogenes* nelle feci si riscontra assai di rado.

La loro presenza è indiscutibile nel latte crudo del mercato in qualsiasi modo esso venga prodotto, ma il loro numero varia assai con il modo di produzione e di conservazione e assume un valore alquanto diverso secondo se è considerato dal punto di vista igienico o da quello tecnologico della trasformazione del latte.

Gli igienisti tengono conto soltanto del *Bac. coli* come germe fecale, talvolta patogeno e talvolta presumibilmente accompagnato dagli altri germi patogeni dell'intestino.

Sono stati dimostrati come causa del catarro e delle diarree intestinali ceppi del *Bac. coli* ingeriti con il latte crudo (Gaffky (24), Abraham (1) ed altri.

Per le trasformazioni del latte la differenza tra il *Bac. coli* e *Bact. aero-genes* non ha importanza, perchè ambedue, se presenti in notevoli quantità, risultano assai dannosi. Possono essere causa del latte filante, dei sapori anormali del latte, del burro e del formaggio, ma soprattutto possono dar luogo al gonfiore del formaggio.

La provenienza del *Coli-aerogenes* nel latte può essere di varia origine, ma dipende quasi totalmente dal modo come è stata eseguita la mungitura ed i successivi trattamenti del latte, inquantochè il latte contenuto nella mammella non contiene quasi mai detti microbi. Le particelle fecali attaccate alla mammella od alle mani del mungitore, le squame e i peli della vacca, la lettiera, il foraggio, il pulviscolo atmosferico, le mosche, i filtri e i recipienti possono portare nel latte quantità più o meno forti dei microbi del gruppo *Coli-aerogenes*.

METODI DI RICERCA QUANTITATIVA DEL GRUPPO COLI-AEROGENES NEL LATTE

Tenuto conto della costante presenza del gruppo *Coli-aerogenes* nel latte, della sua origine e della sua importanza, appare logica la ricerca di un metodo per determinare rapidamente ed in modo semplice il suo contenuto nel latte. Perchè il numero del *Coli-aerogenes* può presentare un buon indizio della entità di inquinamento, cioè del grado di pulizia e del modo di conservazione.

Perciò numerosi sono i metodi proposti in merito, molti dei quali hanno avuto origine da quelli usati per la ricerca del *Coli-aerogenes* nell'acqua (nella quale detti germi assumono un'importanza assai diversa che non nel latte), ma nessuno si può dire abbia avuto sin ora consensi unanimi da coloro che li sperimentarono. Si è creduto perciò opportuno di passarli in rivista vagliando il loro valore in base ai risultati ottenuti dalle numerose ricerche condotte in merito. Tenendo conto dei principi sui quali si basano, i metodi possono dividersi come segue:

1) Metodi nei quali ad un esame preliminare segue un esame di conferma. L'esame preliminare si basa sull'acidificazione e sullo sviluppo di gas nel brodo lattosato, mentre quello di conferma sullo sviluppo di colonie caratteristiche sui mezzi nutritivi solidi (per es. agar di Endo), sul comportamento nella gelatina e sulla colorazione di Gram. Vi appartiene il metodo standard americano per la ricerca del *Bac. coli* nelle acque e il metodo di Neri e Simonetti (63).

2) Metodi che si basano sui terreni resi selettivi con aggiunta di bile o di sali biliari. Tali sono i terreni di Mc. Conckey (60) e Pegallac (49) ai quali viene aggiunta la bile e quelli di Chalmers (11) e Leifson (50) che contengono sali biliari.

3) Metodi che si basano sui terreni resi selettivi con aggiunta di colori di anilina od altre sostanze coloranti accompagnati o no da bile; questi sono i più numerosi e più diffusi. Vi appartengono:

Brodo bile lattosio verde brillante (78)

Brodo bleu di metilene bromocresolporpora (14)

Brodo lattosio cristalvioletto (79)
 Brodo lattosio violetto di genziana (80) Brodo
 bile lattosio violetto di genziana (39)
 Brodo lattosio bile fucsina bleu di bromotimolo (90)
 Brodo lattosio verde di malachite al bromotimolo (90)
 Agar eosina bleu di metilene (79)
 Agar bile rosso violetto (56)·
 Agar di Endo (51)
 Brodo tripaflavina (38, 12)
 Agar tripaflavina I. (38, 12)
 Agar tripaflavina bleu di bromotimolo II. (38, 12)·

4) Metodi che si basano sul viraggio del rosso neutro in giallo con la fluorescenza verde. Vi fanno parte i brodo rosso neutro, brodo glucosio rosso neutro (81) e il brodo glucosio-bile-rosso neutro (67).

5) Metodi che si basano sull'azione selettiva di formiati e ricinoleati. Sono i più recenti. Vi fanno parte:

agar citrato ricinoleato di Littmann e Stark (43)
 brodo formiato ricinoleato di Stark e England (71)
 agar formiato ricinoleato bleu di metilene rosso neutro di
 Bartram e Black (2).

6) Ricerca dell'indolo.

La quantità di Coli-aerogenes per cc. si esprime con la media aritmetica delle colonie, quando vengono usati terreni agarizzati, mentre per terreni liquidi, col numero della diluizione massima che ha dato il risultato positivo.

Assai usate sono per i terreni liquidi le tabelle di Mc. Grady (61) che, se pure non perfette (58), rispondono abbastanza bene allo scopo anche quando vengono usate solamente due provette per ogni diluizione.

1. – *Metodi di arricchimento con prova di conferma.*

Molti A.A. hanno cercato di applicare al latte i metodi per la ricerca del gruppo Coli-aerogenes nelle acque, ma spesso con risultati poco soddisfacenti. Così è stato oggi quasi completamente abbandonato per il latte il metodo standard americano per la ricerca del Coli nelle acque. Il metodo consiste nella semina delle varie diluizioni del latte nel brodo lattosato distribuito nelle provette Durham. Dopo 24-28 ore a 37°C il materiale delle provette contenenti il gas viene seminato sull'agar di Endo, oppure sull'agar bleu di metilene e eosina. Le colonie caratteristiche vengono nuovamente seminate nel brodo lattosato, quindi le provette che presentano formazione di gas, vengono sottoposte ad esame microscopico previa colorazione di Gram. Le provette che contengono germi Gram-negativi ed asporigeni sono tenute come positive per il Bac. coli. Il metodo oltre ad essere lungo non risponde sempre bene perchè gli aerobi sporigeni e i fermenti lattici possono talora ostacolare lo sviluppo del Coli-aerogenes.

Infatti Farrell (18) afferma di aver riscontrato nel controllo del latte crudo (66 campioni) cifre di *Coli-aerogenes* nettamente inferiori con il brodo

lattosato (con o senza tampone) rispetto al brodo lattosio bile verde brillante, brodo lattosio fucsina e brodo bromocresolporpora bleu di metilene. Anche Mc Crady e Archambault (54) hanno trovato, per il latte crudo e pastorizzato, il brodo lattosato inferiore al brodo lattosio bile verde brillante. Invece Gunsalus e Stark (23) ritengono, per l'esame del latte pastorizzato, l'arricchimento in brodo lattosato tamponato o non tamponato con fosfati e successivo trapianto in brodo ricinoleato formiato, ugualmente buono al brodo lattosio bile verde brillante e alla diretta ricerca con brodo ricinoleato formiato. Non è escluso che a questi risultati contribuisca lo scarso numero dei fermenti lattici presenti nel latte pastorizzato.

Il metodo di Neri (63) si basa sulla acidificazione del brodo lattosato in presenza di rosso fenolo che serve come indicatore per il pH. Le provette acidificate, dopo la permanenza di 18 ore a 37°C, si sottopongono all'esame di conferma. Vengono dichiarate positive per il Bac. coli quelle contenenti germi Gram negativi non sporigeni e non fluidificanti la gelatina.

Secondo Lepanto (52) e Gabbano (25) il metodo risponde assai bene; bisogna però tenere presente ciò che si è detto sopra in merito al metodo standard americano. Anche la fluidificazione della gelatina ha valore relativo inquantochè Demeter e Sauer (12) e Johnson e Levine (32) hanno riscontrato ceppi del Coli-aerogenes liquefacenti.

2. - Terreni nutritivi a base di bile e sali biliari.

I metodi nei quali vengono adoperati i terreni nutritivi contenenti bile o sali biliari si basano sulla proprietà di questi ultimi e della bile stessa di ostacolare lo sviluppo di alcuni germi presenti nel latte capaci di dare false reazioni positive oppure di pregiudicare lo sviluppo del Coli-aerogenes nel latte. (Van der Reis (82), Leifson (50) ed altri). La bile viene generalmente aggiunta da 3.5 % al brodo lattosato (in presenza di un indicatore di acidità), versato nei tubi di fermentazione, per continuare lo sviluppo di gas. La selettività dei terreni nutritivi a base di bile e di sali biliari è però in genere alquanto relativa. Mc Grady e Archambault (54) affermano che sull'agar aggiunto di sali biliari soltanto circa 33 % di colonie tipiche risultano realmente appartenenti al Coli-aerogenes. Anche Lerner (49) afferma che il metodo di Pegallac risulta inferiore alla stessa ricerca dell'indolo. Pure il terreno di Mc. Conckey è secondo Farrell (18) notevolmente inferiore ai terreni contenenti la bile e i colori di anilina.

In questi ultimi anni è stato sperimentato con notevole successo un nuovo tipo di agar a base di sali di acido desoxyholico propugnato da Leifson (50). (L'acido desoxyholico è un componente della bile che non era mai stato usato in precedenza nella ricerca del gruppo Coli-aerogenes con terreni selettivi). Solo i suoi sali alcalini sono solubili nelle soluzioni aventi il pH. superiore a 7,5). In particolar modo il desoxyholato di sodio esercita su certi microbi presenti nel latte un'azione solubilizzante e ostacolante assai superiore della bile. Mentre nella zona del pH. 6,5-8,0 i microbi Gram-negativi dell'intestino crescono ancora bene, gli streptococchi e micrococchi si sviluppano malissimo o non crescono affatto. Bartram e Black (2) annoverano l'agar desoxyholato tra i terreni nutritivi che rilevano il maggior numero dei

microbi del gruppo Coli-aerogenes presenti nel latte ritenendolo migliore al brodo verde brillante, brodo lattosio fucsina, brodo taurocolato, agar hexamina e agar di Endo, mettendolo pressochè alla pari col brodo formiato ricinoleato e brodo bleu di metilene creosolporpora. Anche Yale (87) afferma essere codesto terreno nutritivo, assieme all'agar rosso violento bile, il migliore tra i dieci più comunemente usati nella ricerca del gruppo Coli-aerogenes nel latte pastorizzato.

3. - *Terreni nutritivi a base di sostanze coloranti e bile.*

Si basano sull'azione ostacolante che esercitano alcuni coloranti, in particolar modo quelli a base di anilina, sullo sviluppo dei microbi del latte non appartenenti al gruppo Coli-aerogenes, microbi che potrebbero dar luogo a risultati positivi falsi (produzione di acidità e gas) o comunque ostacolare la crescita dei ceppi del suddetto gruppo. L'azione ottenuta in detto modo però non è assoluta come è stato dimostrato da numerose ricerche eseguite in merito. Mentre da una parte non si può impedire del tutto e sempre lo sviluppo dei microbi capaci di produrre acidità e gas, non appartenenti al Coli-aerogenes (cioè risultati positivi falsi), d'altra parte i coloranti impediscono lo sviluppo di qualche ceppo del gruppo Coli-aerogenes. Per mitigare codesta azione tossica sul gruppo Coli-aerogenes è stata aggiunta a molti terreni e con notevole successo, la bile (73, 16).

Dalle numerose ricerche eseguite in merito all'efficacia di questi metodi chiamati in America « presumptive test » sono emersi i suddetti difetti, ma in modo assai vario. Maggiormente sperimentato è stato il brodo bile verde brillante proposto come metodo standard negli Stati Uniti d'America, ivi assai diffuso e generalmente ritenuto come uno dei migliori se pure non perfetto. Il gruppo Coli-aerogenes verrebbe rilevato dalla presenza di gas nei tubi di fermentazione in quantità non inferiore al 10 % del tubetto capovolto; quantità inferiori di gas darebbero risultati dubbi.

Secondo Mc Crady e Archambault (54) le reazioni positive sarebbero molto attendibili, inquantochè hanno constatato che i risultati positivi presentano, per il latte pastorizzato l'89 % e per il latte crudo, il 99 % di probabilità (qualora il gas superi il 10% del tubo capovolto), mentre i risultati dubbi (gas meno del 10 %) solamente 45 % per il latte pastorizzato e 92 % per il latte crudo. Risultati meno soddisfacenti ha ottenuto Farrell (18) per il latte crudo secondo il quale soltanto l'80 % di prove positive (gas) conterrebbe realmente i microbi del gruppo Coli-aerogenes, mentre nelle rimanenti 20% il gas viene prodotto da altri microrganismi. Farrell inoltre osserva che questo metodo non può rispondere così bene per il latte come per l'acqua, in particolar modo quando vengono seminate notevoli quantità di latte (1 cc.) inquantochè i protidi, glucidi e lipidi assorbono in parte le sostanze ostacolanti i microbi non appartenenti al gruppo Coli-aerogenes, diminuendo così il potere selettivo dei terreni. Contrariamente Yale (88) e Guitonneau, Macquot e Eyrard (20) affermano di aver ottenuto ottimi risultati seminando nel brodo bile verde brillante 1 cc. di latte pastorizzato. Parlando poi in genere dei terreni selettivi, Farrell (18) afferma che da migliaia di prove è emerso non essere sempre migliori quelle che danno il mag-

gior numero di Coli-aerogenes, perchè in molti casi permettono lo sviluppo di altri germi produttori di gas e acidità. L'A. poi conclude che non esiste un terreno selettivo con il quale si possano ottenere risultati sicuri e si domanda se vale la pena di fare l'esame di conferma nel caso brodo verde brillante (che considera tra i migliori), ove l'80 % di prove positive risultino realmente tali. Secondo Leahy (44) il 90% di prove positive ottenute col brodo verde brillante conterrebbe realmente il Coli-aerogenes. Anche Stark e Curtis (73) affermano che l'aggiunta di 1 cc. di latte abbassa il potere selettivo del brodo bile verde brillante e di altri terreni selettivi che si basano sul medesimo principio. Il gas può essere perciò prodotto da alcuni micrococchi e da qualche ceppo appartenente al Bac. proteus e, secondo Gunsalus e Stark (22, 23), anche dagli anaerobi. Stark e Curtis (72) affermano in un altro lavoro che oltre che nel brodo bile verde brillante (che è considerato uno dei migliori terreni nutritivi a base di colori di anilina) anche negli altri terreni nutritivi e precisamente nel brodo cristallvioioletto di Salle, brodo di Dominik e Lauter e brodo violetto di genziana si possono sviluppare microrganismi capaci di dare risultati positivi falsi; lo stesso viene confermato da Bartram e Black (2) pur ritenendo il brodo bile verde brillante meno adatto dell'agar bile rosso violetto e l'agar bile rosso neutro per la ricerca del Coli-aerogenes, tanto nel latte crudo, quanto in quello pastorizzato. Secondo Miller e Prickett (56) l'agar bile rosso violetto non sarebbe affatto inferiore al brodo bile verde brillante.

Anche Gehm e Heukelekian (21) trovano che lo striscio sull'agar eosina bleu di metilene dà un numero di coli-aerogenes superiore all'innesto nel brodo bile verde brillante il che è secondo Demeter, assai probabilmente dovuto alla minore selettività del primo terreno.

Sempre per ciò che riguarda il potere ostacolante dei colori di anilina su alcuni ceppi del gruppo Coli-aerogenes, Shunk (75) e Horwod e Heifetz (26) scrivono che questo potere ostacolante è più basso nel brodo bile verde brillante; anche Luther e Klingen (45), seminando diverse culture del Bac. coli e Bact. aerogenes nonchè alcuni ceppi intermedi, hanno trovato che i seguenti terreni nutritivi presentano, per ordine di elenco, sempre minore sensibilità: brodo lattosato standard, brodo lattosato tamponato, brodo bleu di metilene creosolporpora, brodo bile verde brillante, brodo cristallvioioletto e brodo formiato ricinoleato.

Un altro terreno selettivo assai diffuso è il brodo bile lattosio violetto di genziana di Kessler e Swenarton (39). Detti A.A. affermano che in una serie di esperienze da loro condotte, su 1010 risultati positivi solo 10 non contenevano i microbi del gruppo Coli-aerogenes. Anche Renco (67) in una serie di ricerche comparative eseguite su 57 campioni di latte crudo non ha mai trovato tubi con reazione positiva mancanti del gruppo Coli-aerogenes. Lo stesso A., dopo aver adottato il suddetto metodo nel controllo del latte da consumarsi crudo, non ha riscontrato che solamente in un paio di casi risultati positivi falsi e perciò lo ritiene assai adatto allo scopo menzionato (68). Anche Demeter, pur avendo trovato che il detto brodo dà talvolta numero di Coli-aerogenes inferiore agli altri terreni nutritivi (12) lo raccomanda per la praticità di uso e per la forte azione ostacolante che eser-

cita su alcuni streptococchi e bastoncini lattici, nonchè sui lieviti (16) e lo adotta in una serie di ricerche sul latte crudo (15). Inoltre Marschall (53) afferma di aver ottenuti risultati anche migliori dello stesso Demeter, e infine Kraievkaja (34) ne consiglia vivamente l'uso.

Per ciò che riguarda l'azione ostacolante del brodo bile violetto di genziana, il Klang (40) riferisce che le culture di *Bac. fluorescens*, *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*, *Str. lactis*, *Tmb. lactis*, *Tmb. bulgaricum*, *Tmb. helveticum* e lieviti del lattosio aggiunti al brodo bile violetto di genziana assieme al Coli-aerogenes, non ostacolano affatto la crescita di quest'ultimo. In più, solamente il *Bac. fluorescens* è capace di svilupparsi senza però danneggiare il Coli-aerogenes, mentre gli altri subiscono una forte diminuzione o spariscono del tutto. Si intende che anche questo terreno nutritivo come gli altri a base di colori di anilina, esercita una certa azione ostacolante sul Coli-aerigenes (73) e secondo Minkewich (55) lascia sviluppare più il *Bac. coli* che non il *Bact. aerogenes*. Dall'altra parte Stark e Curtis (72) affermano che codesto terreno, come pure gli altri a base di colori di anilina, risulta inferiore al brodo formiato ricinoleato, per il fatto che il gas può essere prodotto da alcuni micrococchi e da qualche ceppo del gruppo *Proteus* e per il solito abbassamento del potere selettivo dovuto all'innesto di 1 cc. di latte.

Zavagli (90) ritiene invece assai adatto il brodo lattosio bile fucsina bleu di bromotimolo per il quale i risultati positivi sono dati dallo sviluppo di gas e dalla acidificazione. L'A. però giustamente afferma che i tubi contenenti il gas ed aventi reazione acida non contengono senz'altro Coli-aerogenes, ma dato che ciò si verifica nella maggioranza dei casi, dette provette possono considerarsi senz'altro positive, se all'esame microscopico presentano bastoncini Gram-negativi. Ciò è stato confermato da Renco (67) e da Holz (27); secondo quest'ultimo, detto terreno sarebbe anche superiore al brodo violetto di genziana.

Degli altri terreni a base di colori di anilina ha avuto una notevole diffusione l'agar di Endo, oggi caduto in disuso per la ricerca del Coli-aerogenes del latte, perchè troppo poco selettivo per tale scopo e dà perciò risultati molto incerti e suscettibili di grandi oscillazioni (Bartram e Black (2), Marschall (53), Demeter, Sauer e Miller (12), Mc Crady e Archambault (54). Mc Crady e Archambault affermano inoltre che sull'agar di Endo ed agar eosina bleu di metilene soltanto in media 33 % delle colonie tipiche risultano originate dai microbi del gruppo Coli-aerogenes. Quest'ultimo terreno viene sconsigliato anche da Demeter e collab. (12) poichè non possiede azione selettiva anche perchè risulta difficile la lettura delle colonie in campo azzurro.

Numeri bassi di Coli-aerogenes si ottengono invece col brodo di cristalvioletto di Salle (79) per l'azione microbica del colorante su parecchi ceppi appartenenti al suddetto gruppo (Shermann e Wing (14) e Demeter, Suer e Miller (12) Demeter e Sauer (13) hanno trovato che su 118 ceppi di Coli-aerogenes da loro isolati 17 non erano capaci di produrre gas nel brodo cristalvioletto.

Secondo Luther e Klinger (45), detta azione verrebbe esercitata soprattutto sui ceppi del Bac. coli.

Negli ultimi anni alcuni A.A. americani raccomandano l'agar bile rosso violetto, nel quale il Bac. coli forma entro 18-24 ore piccole caratteristiche colonie di color rosso porpora circondate dalla bile precipitata. Miller e Prickett (56) affermano che detto terreno non è affatto inferiore al brodo verde brillante, Bartram e Black lo ritengono superiore al brodo bile verde brillante e Yale (87) lo trova assieme all'agar desoxyholato il migliore dei terreni agarizzati.

Klimmer, Haupt e Brochers (38) hanno pubblicato nel 1930 risultati di una serie di esperienze eseguite sull'azione ostacolante della tripaflavina sui microbi del latte non appartenenti al gruppo Coli-aerogenes. L'aggiunta di tripaflavina in ragione di 1 : 20.000 nei terreni solidi e 1 : 10.000 nei terreni liquidi ostacolerebbe lo sviluppo degli streptococchi lattici, stafilococchi, bastoncini lattici e Bac. subtilis, mentre permetterebbe lo sviluppo del Coli-aerogenes. I suddetti A.A. propongono tre terreni nutritivi: due a base di agar con varie quantità di tripaflavina e aggiunta del bleu di bromatimolo come indicatore ed uno come brodo. Tutti e tre i suddetti terreni, assieme ad altri numerosi furono oggetto di un accurato studio da parte di Demeter, Sauer e Miller (72) i quali trovarono l'agar lattosio tripaflavina broinotimolo migliore di tutti gli altri, compreso il brodo bile verde brillante e il brodo bile violetto di genziana. Pressochè alle medesime conclusioni giunge Holz (27) trovando l'agar tripaflavina bleu di bromotimolo il migliore fra i terreni nutritivi solidi, i quali rispetto a quelli liquidi, darebbero in media un numero di Coli-aerogenes superiore del 50%, mentre Marschall afferma che il brodo bile violetto di genziana dà numeri di Coli-aerogenes 2-3 volte e persino 10 volte superiori all'agar di tripaflavina. Lo striscio coll'ansa Burri sul detto terreno darebbe risultati migliori. Detto agar è stato prescritto dal Ministero dell'Agricoltura Prussiano nel metodo standard per la ricerca del Coli-aerogenes nel latte destinato alla alimentazione dei bambini (Kindermilch).

4. - Terreni nutritivi a base di rosso neutro.

Il brodo rosso neutro è uno dei più vecchi terreni adottati per la ricerca del Coli-aerogenes nelle acque. I microbi del gruppo Coli-aerogenes hanno la proprietà di conferire al rosso neutro la colorazione gialla e fluorescenza verde. La fluorescenza verde sarebbe dovuta alla riduzione del rosso neutro per opera di idrogeno, mentre la colorazione gialla alla messa in libertà della base del rosso neutro. Secondo Rochaix e Dufourt (69) quest'ultima reazione avverrebbe solamente in reazione alcalina, perchè la comparsa della colorazione gialla sarebbe dovuta all'azione di alcali sul rosso neutro, il fenomeno però deve essere più complesso, perchè anche nel brodo rosso neutro aggiunto di zucchero, dal quale vengono prodotti gli acidi, si osserva la caratteristica reazione. Perciò Vassileff (81) raccomanda l'uso del brodo rosso neutro senza l'aggiunta di zuccheri. Ciò nonostante lo stesso A. aggiunge al brodo rosso neutro anche 1 cc. di latte, il che apporta

lo zucchero e necessariamente, se vi è sviluppo di Coli-aerogenes, produzione di acidità. In una serie di ricerche comparative Renco (67) ha trovato il brodo rosso neutro senza zucchero nettamente inferiore al brodo bile violetto di genziana e brodo bile fucsina bleu di bromotimolo. Tra gli altri terreni a base di rosso neutro sono più comunemente usati il brodo glucosio rosso neutro di Savage e quello di Neri proposto per l'acqua. La ricerca del Coli-aerogenes eseguita con quest'ultimo terreno e completata da un esame di conferma, eseguendo la semina sull'agar per avere culture di isolamento, darebbe secondo de' Rossi (17), risultati assai soddisfacenti. S'intende che il brodo rosso neutro così preparato non è selettivo e che i fermenti lattici presenti in abbondanza nel latte crudo possano ostacolare lo sviluppo del Coli-aerogenes. Ciò può essere in parte evitato con aggiunta di bile, aggiunta che può dare, secondo Renco (67), realmente dei buoni risultati.

5.- *Terreni nutritivi a base di ricinoleati e formiati.*

Stark e England (71) hanno proposto nel 1935 un nuovo terreno nutritivo liquido a base di ricinoleato sodico e formiato sodico per la ricerca del gruppo Coli-aerogenes nelle acque e nel latte. Questo terreno nutritivo avrebbe rispetto agli altri, a base di coloranti, il vantaggio di non ostacolare affatto i germi del gruppo Coli-aerogenes, anzi il loro sviluppo verrebbe favorito. Nello stesso tempo impedirebbe totalmente la crescita di altri microbi presenti nell'acqua o nel latte capaci di produrre gas e dare così luogo a risultati falsamente positivi; quest'ultima azione sarebbe dovuta particolarmente al ricinoleato sodico, mentre il formiato sodico, pur avendo un'azione pressochè uguale, favorirebbe lo sviluppo del Coli-aerogenes (cioè anche per la sua azione di tampone). Un altro vantaggio sarebbe rappresentato dallo sviluppo di Salmonelle capaci di produrre gas dall'acido formico, inquantochè detta fermentazione porta un accumulo di Na OH ed Na HCO₃ con un aumento del pH che dopo due giorni dalla semina risulta sempre superiore al 6,0. Questi vantaggi del brodo ricinoleato formiato rispetto ai terreni a base di coloranti vengono confermati in un altro lavoro di Stark e Curtis (72). Dalle esperienze di Gunsalus e Stark (23, 24) risulta che detti vantaggi si farebbero sentire soprattutto nella ricerca del Coli-aerogenes nel latte crudo, mentre per il latte pastorizzato si otterrebbero, con il brodo verde brillante, pressochè i medesimi risultati. Gli stessi A.A. affermano che dal controllo di 147 prove positive, 144 risultavano contenenti realmente Coli-aerogenes e, in un'altra serie di esperienze eseguite su 665 campionidi latte pastorizzato con reazione positiva, solo 2% di casi positivi non contenevano microbi del gruppo Coli-aerogenes.

Secondo Yale (88) si possono ottenere ottimi risultati nella ricerca del Coli-aerogenes in 1 cc. di latte pastorizzato tanto con il brodo ricinoleato e formiato quanto con il brodo verde brillante. Bartram e Black (2) dopo aver fatto ricerche comparative con numerosi terreni nutritivi trova come migliori il brodo bleu di metilene creosolporpora, brodo formiato ricinoleato, agar desoxyholato, seppure con nessuno di questi si possa impedire completamente lo sviluppo dei microbi non appartenenti al Coli-aerogenes.

Gli stessi A.A. propongono un altro terreno agarizzato a base di ricinoleato e formiato con aggiunta di rosso neutro e bleu di metilene. Luther e Klin-ger (45), provando lo sviluppo di diverse culture di Bac. coli, Bact. aerogenes e di alcuni ceppi intermedi, trovano che il brodo ricinoleato formiato presenta minor sensibilità del brodo lattosato (standard), brodo lattosato tamponato, brodo fucsina, brodo bleu di metilene creosolporpora, brodo bile verde brillante e brodo crisalvioletto. Verso il cristalvioletto e formiato ricinoleato si dimostrerebbero particolarmente sensibili i ceppi del Bac. coli, un po' meno quelli del Bact. aerogenes e forme intermedie. Pure Leahy (44) trova il brodo formiato ricinoleato pressochè ugualmente sensibile al brodo bile brillante, inquantochè con metodi standard ha trovato nel primo 88% di casi Coli-aerogenes, mentre nel secondo 90%.

6. - *Prova dell'indolo.*

In alcuni laboratori francesi (20) ed anche in qualche altro paese d'Europa (49) viene usata anche oggi la prova dell'indolo per la ricerca del Bac. coli nel latte. Tale prova viene eseguita nel brodo peptonato fenico, nell'acqua peptonata o nel brodo tripsina dopo 1-4 giorni di incubazione a 37°C con aggiunta di ben noti reagenti. Il metodo è da scartarsi qualora si debba ricercare il Bac. coli in 1 cc. o in 0,1 cc. di latte, inquantochè la presenza del lattosio impedisce lo sviluppo dell'indolo (Oeser (64) Lerner (49)). La prova dell'indolo dovrebbe servire dunque per la ricerca del solo Bac. coli, pur essendo noto che non mancano ceppi del Bact. aerogenes capaci di produrre indolo (64) e che ne esistono alcuni altri appartenenti al Bac. coli incapaci di detta attività. I fattori sopra indicati rendono perciò la prova dell'indolo poco adatta per la ricerca del Coli-aerogenes del latte. Ciò venne dimostrato particolarmente dagli studi comparativi eseguiti da Demeter, Sauer e Miller (12) e da Guittonneau, Macquot e Eyrard (20), i quali la trovano nettamente inferiore ai terreni a base di coloranti (in particolar modo verde brillante e violetto di genziana).

METODI PRATICI DI DIFFERENZIAZIONE DEL BACT. COLI E DEL BACT. AEROGENES.

Provenienza e significato del Bac. coli e Bact. aerogenes nel latte

Come è stato osservato precedentemente, la ricerca del gruppo Coli-aerogenes nel latte ha importanza dal punto di vista igienico solamente in quanto questa serve a rilevare la presenza di ceppi di origine fecale e precisamente del Bac. coli. Perchè è stato constatato che le feci umane e bovine contengono quasi esclusivamente il Bac. coli, mentre il Bact. aerogenes predomina invece, oltre che nel terreno, anche sui tuberi, cereali, nella polvere ed anche nelle acque che non hanno subito un recente inquinamento fecale (Mc Conckey (59), Clemesha (10), Johnson (31), Levine (47, 48), Koser (36, 37), Kon (33), Malcolm (57), Wilson (86)). Infatti Mc. Conckey (59) ha riscontrato su 241 ceppi del gruppo Coli-aerogenes, isolati dalle feci, solo 4 appartenenti al Bact. aerogenes e Malcolm (57), dall'analisi

di 114 campioni di feci provenienti da vacche tenute in stalla durante l'inverno e al pascolo durante l'estate, ha isolato 342 ceppi di Coli-aerogenes, dei quali 96,4% erano rappresentati dal tipico Coli e 3,6% dal Bact. aerogenes, Bac. cloacae ed altri simili. Secondo Kon (33) le feci e la lettiera contengono esclusivamente Bact. coli, e l'origine del Bact. aerogenes nel latte è da ricercarsi nell'inquinamento dovuto ai recipienti.

Tutto ciò non vuol dire che tutti i ceppi appartenenti al Bac. coli presenti nel latte provengono direttamente dalle feci. Come hanno dimostrato Guittonneau, Macquot e Eyrard (20) e come ha potuto constatare lo scrivente, il Bac. coli si moltiplica benissimo nei recipienti, imbottigliatrici, refrigeranti poco puliti e perciò assai spesso il suo alto contenuto nel latte non è da ascrivere al diretto inquinamento fecale. Inoltre è noto che, dal punto di vista igienico, il maggior pericolo è rappresentato dall'inquinamento del Bac. coli di origine fecale umana, il che si verifica rarissimamente, mentre le feci bovine si trovano nella stalla un po' dappertutto.

D'altra parte non bisogna dimenticare che anche la presenza del Bact. aerogenes è dovuta alla scarsa pulizia nella produzione, inquantochè è stato dimostrato che detto germe non si trova quasi mai nel latte contenuto nella mammella (Renco (168)).

Tenendo presenti le suindicate fonti di inquinamento si comprende facilmente come, col variare delle condizioni di produzione, può variare il numero del Coli-aerogenes ed il rapporto tra il Bac. coli e Bact. aerogenes nel latte.

Infatti ciò è stato confermato dalle ricerche condotte in merito da vari A.A., ricerche che purtroppo non possono essere paragonabili che con una certa approssimazione, perchè nella classificazione dei ceppi non tutti gli A.A. hanno seguito il medesimo criterio. Si crede utile di riportare i risultati di alcuni lavori eseguiti in merito.

Yale (89), applicando le classificazioni di Bergey a 91 ceppi isolati nel latte crudo trova 63 % appartenenti al Bac. coli, 26 % al Bact. aerogenes e 11 % a forme intermedie, considerando come forme intermedie i ceppi che danno reazione del rosso metile e del citrato positiva e quella di Voges-Proskauer negativa.

Oeser (64) riferisce che 164 ceppi isolati dal latte crudo, seguendo sempre la classificazione di Bergey, 107 appartenevano al sottogruppo del Bac. coli e 57 al Bact. aerogenes, adottando invece le reazioni dell'indolo, rosso metile, Voges-Proskauer e citrato si dovettero ascrivere 56 al tipico Bac. coli e 8 al tipico Bact. aerogenes, mentre la rimanenza alle forme intermedie.

Bartram e Black (4), in una serie di ricerche eseguite su 331 campioni di latte dal quale isolarono 310 culture di Coli-aerogenes, trovano 57 % ceppi appartenenti al Bac. coli (con predominio di Bat. coli comunior con 12 ceppi) 22 % al Bact. aerogenes e 21% alle forme intermedie.

Farrel (18) ha trovato invece su 140 culture, isolate dal latte, con l'agar eosina bleu di metilene 53% di ceppi appartenenti al Bac. coli, 40% al Bact. aerogenes e 7% alle forme intermedie.

Rogers, Clark e Davis (66) trovano pressochè il medesimo rapporto con 52% ceppi di origine fecale e 48% di origine non fecale.

Anche Zavagli (90) ha riscontrato una percentuale non molto diversa, con 46% di ceppi del Bac. coli, 44% del Bact. aerogenes e 10% di forme non esattamente classificabili.

Guittonneau e Collab (20) trovano invece una percentuale di Bac. coli alquanto più alta, con 32 ceppi di Bac. coli tipico, 8 di atipico e 14 ceppi di Bact. aerogenes tipico e di 2 atipico, su 56 culture isolate dal latte.

Le percentuali più basse di Bac. coli sono state ottenute da Demeter e Sauer (13) con 25,3 % di Bac. coli dei quali 10,1 % di coli non tipico, 19% di Bact. aerogenes (9,1% non tipico) e 55,5% di ceppi intermedi, da Phyllis Kon (65), con 29% di Bac. coli, 48% di Bact. aerogenes e 22,4% di forme intermedie e da Chalmers (8) con 19% di Bac. coli e 29,6% di Bact. aerogenes.

Anche secondo Kon (33) il Bac. coli ha nel latte assoluta predominanza sul Bact. aerogenes. Una classificazione molto precisa è stata eseguita dalla Lipska (46) su 200 ceppi del Coli-aerogenes isolati da 600 latti. Tra questi furono classificati 13% come Bact. neapolitanum, 19,5% Bact. lactis aerogenes, 19,5% Bact. coli comune, 7% Bact. coli comunior e 13% come Bac. acidi lattici.

Tutti questi dati dimostrano che i microbi del gruppo Coli-aerogenes presenti nel latte sono rappresentati dal Bac. coli con una percentuale che oscilla all'incirca da 25-70%. Tenuto conto di queste oscillazioni, ma soprattutto dell'importanza del Bac. coli come germe di origine fecale, molti A.A. hanno cercato di introdurre metodi semplici e rapidi per differenziare il Bac. coli dal Bact. aerogenes.

Tra le più importanti e più sperimentate sono indubbiamente le prove dell'indolo, rosso metile, Voges-Proskauer e del citrato. Ma oltre a queste, lasciando da parte le prove di fermentazione degli zuccheri, ne sono state proposte numerose altre tenute generalmente meno in considerazione delle precedenti. Tra queste si deve ricordare in primo luogo la prova di Eijkmann che consiste nell'incubazione delle culture in brodo peptone alla temperatura di 46 % C., alla quale si svilupperebbero solamente i ceppi del Bac. coli provenienti dagli animali a sangue freddo. I risultati sarebbero soddisfacenti (Zavagli (90).

Un altro metodo differenziale proposto da Koser (41) si basa sulla capacità del Bact. aerogenes di utilizzare l'azoto dall'acido urico, capacità che manca al Bac. coli.

I metodi più recenti si basano sulle seguenti caratteristiche:

1) La fissazione dello iodio. Secondo Barthel (5, 7) il Bac. coli non è in grado di produrre nel latte le sostanze fissanti lo iodio, mentre il Bact. aerogenes ne produce in notevole quantità.

2) Comportamento verso l'acido borico, Vaughn e Levine (83) riportano la composizione di un terreno nutritivo a base di acido borico, terreno nel quale soltanto il Bac. coli sarebbe capace di produrre gas. Detti A.A. riferiscono che su 148 ceppi di Bac. coli 95,3% produssero gas dopo 48 ore a 43-44° C., mentre ciò non avvenne nè per i 181 ceppi del Bact. aerogenes, nè per le 53 forme intermedie (Citrobacter). Risultati pressochè identici riportano Bartram e Black (3) usando la temperatura di 37° C. invece di 43° C.

3) Comportamento verso l'acido tellurico. Secondo Chahners (8) una soluzione di acido tellurico allo 0,0013% in terreni contenenti sali biliari e lattosio impedisce lo sviluppo del *Bact. aerogenes*, mentre non disturba il *Bac. coli*, viceversa avviene nei terreni contenenti verde brillante in ragione dello 0,0006%. Seminando il latte in ambedue i terreni si può vedere con una certa sicurezza quale dei due microbi ha il predominio.

4) Comportamento verso il citrato di sodio nel terreno di Littmann e Stark (43). Si tratta di agar a base di citrato e ricinoleato sodico, al quale si aggiungono il rosso neutro e bleu di bromotimolo come indicatori. Al terreno bisogna aggiungere 1 cc. di latte per portare il lattosio e per permettere di rilevare la proteolisi. Il *Bact. aerogenes* forma colonie circondate di colore azzurro (perchè attaccando il citrato dà reazione alcalina), mentre quelle del *Bac. coli* sono rosse. I proteolitici si distinguono da una zona trasparente attorno alle colonie.

Nessuno dei suddetti metodi dà risultati del tutto sicuri, perciò alcuni A.A. hanno cercato di combinare diverse prove per ottenere così una diagnosi più precisa.

La combinazione più comunemente scelta si basa sulle prove dell'indolo, rosso di metile, Voges-Proskauer e del citrato.

Prova, dell'indolo, rosso di metile, Voges-Proskauer e citrato.

Prova dell'indolo. - Pur avendo riscontrato alcuni A.A. ceppi del *Bac. coli* incapaci di produrre indolo e quelli del *Bact. aerogenes* capaci di produrlo, la sua ricerca, per la distinzione dei due ceppi, se abbinata con altre prove, offre degli indizi assai soddisfacenti (64). Ruchhoft, Kallas, Chimm e Coulter (70) ritengono la prova dell'indolo come un ottimo mezzo diagnostico ed assai stabile ed anche Demeter e Sauer (13) le attribuiscono una notevole importanza. Come è già stato osservato la prova deve essere eseguita sulle culture ottenute nei terreni privi di zuccheri, perchè questo ostacola la produzione di indolo.

Prova del rosso di metile. - Secondo Clark e Lubs (9) i ceppi appartenenti al *Bac. coli* produrrebbero più acidità che non quelli appartenenti al *Bact. aerogenes*; aggiungendo perciò a una cultura in brodo glucosato il rosso di metile si ha una colorazione rossa per il *Bac. coli* e gialla per il *Bact. aerogenes*.

Secondo Ruchhoft e Collab. (70) la prova del rosso di metile dà, in combinazione colle altre, dei buoni risultati, mentre Demeter e Sauer (13) con Oeser (64) non la ritengono molto esatta e molto stabile. Singer (77) inoltre afferma l'esistenza di alcuni ceppi del *Bac. coli* deboli acidificatori e di altri del *Bact. aerogenes* forti produttori di acidità. Syrocki e Collab (76) invece consigliano di sostituire il rosso neutro con la limatura di ferro che verrebbe attaccata solamente dalla forte acidità prodotta dal *Bac. coli* (pH inferiore a 4,98). L'attacco del ferro può essere messo in evidenza con aggiunta di ferrocianuro di potassio.

Reazione di Voges-Proskauer. - La reazione di Voges-Proskauer consiste essenzialmente nell'allestire le culture in brodo glucosato nel quale siri-

cerca l'acetilmetilcarbinolo con aggiunta di idrato sodico o potassico. L'acetilmetilcarbinolo verrebbe prodotto solamente dal Bact. aerogenes. Il chimismo della reazione non sembra molto semplice e, secondo Harden (30), consiste in un primo tempo nella produzione da parte del gruppo Coli-aerogenes; di 2,3 di butilenglicolo, il quale verrebbe ulteriormente ossidato solamente dal Bact. aerogenes e così trasformato in acetilmetilcarbinolo. Il Bac. coli invece non è in grado di produrre l'acetilmetilcarbonilo.

La prova di Voges-Proskauer è stata oggetto di numerosi studi; particolarmente importanti sono i lavori di Clemesha (10) Harden e collab. (28, 29), Mc. Conckey (62), Levine (47, 48), Johnson e Levine (32), Koser (36), Ruchhof e Collab. (70) e altri, lavori dai quali risulta che i ceppi del gruppo Coli-aerogenes provenienti dalle feci umane e animali danno rarisimamente la reazione Voges-Proskauer positiva.

Per l'esecuzione della prova sono stati proposti vari procedimenti tra i quali il più sensibile e preciso sarebbe secondo Gorrieri (19), e Demeter e Sauer (13), quello di Leifson (42), ma anche quello di Werkmann (84) darebbe buoni risultati. In ogni caso l'incubazione dei microbi del gruppo Coli aerogenes non si deve protrarre a lungo, perchè lo stesso Bact. aerogenes è capace di scomporre l'acetilmetilcarbinolo (Williams e Morow (85), Ruchhof e Collab (70)).

Prova del citrato. - Secondo Koser (37,35) il Bact. aerogenes può utilizzare come fonte di carbonio l'acido citrico sotto forma di sali di sodio, potassio ed ammonio qualora venga coltivato su un terreno sintetico appropriato, mentre i ceppi del Bac. coli di origine fecale, non posseggono tale proprietà. L'attacco dei citrati ha per conseguenza un aumento del pH che da 6,8 (reazione del terreno sterile) sale sino a 8,4-9,0. Secondo Ruchhof e collaboratori solamente il Bact. aerogenes si sviluppa realmente bene e bastano 3 giorni a 37° C. per la lettura dei risultati. Secondo i suddetti A.A. la prova ha un grande valore diagnostico ed anche Demeter e Sauer (13) la trovano soddisfacente e costante.

*Il valore diagnostico delle prove dell'indolo, rosso di metile,
Voges-Proskauer e del citrato.*

Dato che nella ricerca dei microbi del gruppo Coli-aerogenes nel latte interessa più la loro origine fecale o non fecale che la identificazione delle singole specie, le quattro suddette prove, eseguite contemporaneamente, assumerebbero indiscutibilmente un valore diagnostico di grande importanza. Se le singole prove dessero risultati sempre esatti tutti i ceppi dovrebbero presentare solamente due tipi di combinazioni e precisamente: i ceppi di origine fecale le prove di indolo e di rosso di metile positive e le prove di Voges-Proskauer e dei citrati negative, il che si usa indicare brevemente + + - -, mentre i ceppi di origine non fecale le prime 2 negative e le seconde positive cioè - - + +.

Il che per diverse ragioni non si verifica sempre, perchè come dimostrano i vari lavori, si ottengono, oltre alle suddette, diverse altre combinazioni. La ragione principale sta nel fatto che nessuna delle suindicate prove dà risultati

assolutamente sicuri e purtroppo sin'ora non è stata accertata l'origine di tutti i ceppi che danno luogo a queste nuove combinazioni. Non si può escludere d'altra parte, nella ricerca pratica che alcune di dette combinazioni (teoricamente ne potrebbero esistere 16 e Demeter e Sauer (13) ne hanno riscontrate 13) siano dovute alle culture miste (Ruchhoft e Collab (70)), perchè dette prove vengono, per ovvie ragioni di praticità, generalmente allestite con culture di arricchimento provenienti direttamente dal latte.

I lavori più completi eseguiti in merito sono quelli di Ruchhoft e Collab (70), Demeter e Sauer (13) e Oeser (64). Prendendo in esame alcune delle suddette combinazioni si trova che Demeter e Sauer considerano le combinazioni $+ - + +$, $+ + - +$ dovute al Bac. coli atipico e quelle $- - + -$, $- - - +$ al Bact. aerogenes atipico. Secondo Ruchhoft e collab. sono da considerarsi le combinazioni $+ - - -$, $+ + + -$, $+ - + -$, $- + + -$ come culture miste; quest'ultima ($- + + -$) secondo Demeter e Sauer risulterebbe appartenere - con le prove di fermentazione della dulcite e del saccarosio - al Bact. aerogenes. Ceppi con combinazione $- + - +$ sono stati riscontrati nel terreno e nell'acqua e solo raramente nelle feci. Ceppi che danno le combinazioni $- - + -$, $- - - -$, non appartengono, secondo Ruchhoft, al gruppo Coli aerogenes, mentre la combinazione $+ + + +$ è da considerarsi, secondo Demeter e Sauer, in base alle altre prove, assai vicina al Bact aerogenes.

Senza continuare con l'esame di altri casi si rende evidente che nemmeno le combinazioni di dette prove possono indicare in molti casi con precisione l'origine dei singoli ceppi del gruppo Coli-aerogenes.

CONCLUSIONI

Dalla rassegna delle principali ricerche riguardanti i metodi di ricerca del gruppo Coli-aerogenes nel latte si crede di poter trarre le seguenti deduzioni.

1. I microbi del gruppo Coli-aerogenes sono sempre presenti nel latte crudo del mercato, ma la loro importanza, dal punto di vista igienico, dipende in parte dalla origine ed in parte dalla quantità dei ceppi. Dal punto di vista tecnologico delle trasformazioni del latte è importante invece soltanto il numero complessivo dei germi del suddetto gruppo.

2. Per la ricerca quantitativa e qualitativa (distinzione tra i ceppi di origine fecale e non fecale) sono stati proposti numerosi metodi dei quali alcuni, molto usati, sono stati oggetto di numerose ricerche.

3. I metodi della ricerca del gruppo Coli-aerogenes consistono sostanzialmente nella semina di quantità decrescenti del latte sui terreni elettivi o di arricchimento. Con nessuno di questi, compresi i migliori, si ottengono risultati del tutto sicuri.

Tra i migliori metodi e più comunemente usati sono alcuni appartenenti a quelli che si basano sulla produzione di acidità e di gas (o solo gas) nei ter -

reni nutritivi contenenti la bile o sali biliari e colori di anilina, e precisamente: brodo lattosio bile verde brillante, brodo lattosio bile violetto di genziana e brodo lattosio bile fucsina bleu di bromotimolo.

Secono alcuni A.A. americani si ottengono risultati anche superiori con terreni a base di formiato e ricinoleato sadico e, secondo tedeschi, coll'agar a base di tripaflavina.

In nessuno di detti terreni però si riesce, da una parte, sicuramente a impedire lo sviluppo dei microbi capaci di dare risultati positivi falsi, e dall'altra a non ostacolare qualche ceppo del gruppo Coli-aerogenes. Dato che la percentuale degli scarti è relativamente piccola non conviene in pratica fare gli esami di conferma.

4. Per la distinzione tra ceppi di origine fecale (Bac. coli) e quelli di origine non fecale (Bact. aerogenes), fra i numerosi metodi proposti è assai usata la combinazione delle prove dell'indolo, rosso di metile, Voges-Proskauer e citrato. Anche con queste prove non si può mettere sempre con sicurezza in evidenza l'origine dei ceppi. Si domanda perciò se vale la pena di applicarle all'analisi pratica del latte, inquantochè i ceppi di origine fecale provengono generalmente dalle feci bovine e dai recipienti poco puliti, nei quali si sono abbondantemente moltiplicati.

BIBLIOGRAFIA

(1) *Abraham G.* - Untersuchungen über eine durch ein atypisches Coli-bakterium hervorgerufene Milchinfektion. «Zentralbl. f. Bakter.», Abt. I, 1929, 113, 74.

(2) *Bartram M. T. and Black L. A.* - Detection and significance of the coliform group in milk. I. A comparison of media for use in isolation. «Food Research », 1936, 1, 551.

(3) *Bartram M. T. and Black L. A.* - Reaction of Escherichia, Aerobacter and Citrobacter strains in boric acid and hexamine media. « Journ. Bact. », 1936, 31, 24.

(4) *Bartram M. T. and Black L. A.* - Detection and significance of the Coliform group in milk. II. Identification of species isolated. «Food Research », 1937, 2, 21.

(5) *Barthel Cr.* - Nouvelle methode pour differencier au point de vue biochimique les groupes de bacteries Coli et Aerogenes. « Annales de l'Ecole Superieure d'Agriculture de Suède », 1936, 3, 179.

(6) *Bergey D. H.* - «Determinative Bacteriology ». London, 1930.

(7) *Barthel Cr.* - Une nouvelle methode de differenciacion biochimique des groupes coli et aerogenes. « Le Lait », 1932, 12, 610.

(8) *Chalmers C. H.* - The significance of true *B. coli* (*B. coli comunis*) and *B. lactis aerogenes* in samples of milk. «*Zentralbl. f. Bakter.*», II, 1934, 89, 459.

(9) *Clark W. M. and Lubs H. A.* - The differentiation of Bacteria of the colon aerogenes family by the use of indicators. «*Journ. Inf. Dis.*», 1915, 17, 160.

(10) *Clemesha E. E. C.* - The bacteriology of inland waters in the tropics. Calcutta, London 1912. Citato da Levine: «*Journ. Bact.*», 1916, 1, 153.

(11) *Chalmers C. H.* - «*Journ. Hyg.*», 1928, 27, 295.

(12) *Demeter K. I., Sauer F., Miller M.* - Vergleichende Untersuchungen über verschiedenen Methoden zur Coli-aerogenes Tiberbestimmung in Milch. «*Milchw. Forsch.*», 1933, 15, 265.

(13) *Demeter K. I. and Sauer F.* - Beitrage zur Kenntnis der Coli-aerogenes - Bakterium in Milch. «*Milchw. Forsch.*», 1934, 16, 236.

(14) *Dominik I. R. and Lauter C. J.* - Methylene bleu and brom. creosol purple in differentiating bacteria of the colon aerogenes group. «*Journ. Amer. W. W. Ass.*», 1929, 21, 1067.

(15) *Demeter K. J. und Ordolff H.* - Beiträge zur mikrobiologischen Bestimmung der Käseeritauglichkeit von Milch. «*Milchw. Forsch.*», 1931, 12, 1.

(16) *Demeter K. J.* - «*Bakteriologische Untersuchungsmethoden.*» Urban-Schwarzenberg, Berlin 1934, p. 32.

(17) *De Rossi G.* - «*Microbiologia Agraria e Tecnica*», U.T.E.T., Torino, 1928.

(18) *Farrel M. A.* -A comparison of ten presumptive test media used in the detection of the Escherichia - aerobacter group in milk. «*Journ. Dairy Sci.*», 1937, 20, 67.

(19) *Gorrieri A.* - A propos de quelles perfectionnements dans la technique de l'épreuve de Voges - Proskauer pour l'étude du groupe coli-aerogenes. «*Società Intenazionale di Microbiologia - Bollettino della Sezione italiana*», 1932, 4, 199.

(20) *Guillonnet G., Macquot G., Eyrard E.* - Recherches sur la pasteurisation des laits de consommation. Sur la colimetrie appliquée aux controles de la pasteurisation des laits et des lait pasteurisés. «*Le Lait*», 1939, 19, 113.

(21) *Gehm H. W. and Heukelekian H.* - Eosin methylene bleu smear agar for rapid direct count of *E. Coli*. «*Journ. Bact.*», 1935, 29, 28.

(22) *Gunsalus J. C. and Stark C. N.* - An evaluation of formate-ricinoleate broth for the detection of colon-organisms in raw and pasteurized milk. «*Journ. Bact.*», 1937, 34.

- (23) *Gunsalus J. C. and Stark C. N.* - Formate ricinoleate and brilliant green bile broths to detect coliform organisms in pasteurized milk. «Amer. Journ. Publ. Health », 1938, 28, 832.
- (24) *Gaffky.* - Erkrankungen an infektiöser Enteritis infolge des Genusses ungekochter Milch. «Deutsch. Med. Wocheschr ». 1892, 18, 297.
- (25) *Gabbano L.* - Il significato ed il valore dell'esame batteriologico del latte. «L'Igiene Moderna », Genova, 1931.
- (26) *Horwod M. P. and Heifetz A.* - A comparative study of certain media used in presumptive test for Bact. Coli. « Journ. Bacter. », 1934, 28, 199.
- (27) *Holz H.* - Vergleichende Untersuchungen über den Nachweis des Coligehaltes der Milch. Ref. «Milchw. Forsch », 1938, 19.
- (28) *Harden A.* - The chemical action on glucose of the lactose - fermenting organisms of faeces. « Journ. of Hyg », 1905, 5, 488.
- (29) *Harden A.* - On Voges and Proskauers reaction for certain Bacteria. «Proceed. Roy. Soc. London. Ser. B », 1906, 77, 424.
- (30) *Harden A. and Walpole G. St.* - Chemical action of Bacillus lactis aerogenes on glucose and mannitol: Production of 2 : 3 Butylenglycol and acethylmethylcarbinol. « Proceed. Roy. Soc. London Ser. B. », 1906, 77, 399.
- (31) *Johnson B. R.* - Coli-like organisms of the soil. «Journ. Bact. », 1916, 1, 96.
- (32) *Johnson B. R. and Levine M.* - Characteristics of coli-like microorganisms from the soil. «Journ. Bact. », 1917, 2, 379.
- (33) *Kon P. M.* - Organisms a forme Coli dans le lait e dans le matières fécales des bovides. «Journ. of Dairy Research. », 1933, 4, 206.
- (34) *Kraievskaja A. B.* - Méthode de détermination dans le lait de Bact. coli dans les entreprises industrielles de lait. « Microbiologie », 1935, 4, 73. - Rec. «Le Lait », 1937.
- (35) *Koser St. A.* - Correlation of citrate utilization by members of the colon aerogenes group with other differential characteristics and with habitat. « Journ. Bact », 1924, 9, 59.
- (36) *Koser St. A.* - Differential test for colon - aerogenes group in relation to sanitary quality of water. «Journ. Inf. Dis. », 1924, 35, 315.
- (38) *Klimmer M., Haupt H., Brochers F.* - Ueber das Vorkommen und die Bestimmung der Coli - und di Aerogenes Bakterien in der Milch. «Milchw. Forsch », 1930, 9, 236.
- (39) *Kessler M., Swenartoz I. C.* - Gentian violet lactose peptone bile for the detection of B. coli in milk. «Journ. Bact. », 1927, 14, 47.
- (40) *Klang I.* - Nachweis des Bacterium Coli in Milch durch Gasbildung in Gentianaviolettgallepeptonmilchzuckerlösung. «Milchw. Forsch. », 1931, 12, 494.

- (41) *Koser St. A.* - The employment of uric acid synthetic medium for the differentiation of *B. coli* and *B. aerogenes*. « Journ. Inf. Dis », 1918, 23, 377.
- (42) *Leifson E.* - An improved reagent for the acetyl - methyl - carbinol test. « Journ. Bact. », 1932, 23, 353.
- (43) *Littmann M. L. and Stark C.N.* - Citrate-ricinoleate agar for the detection of *Escherichia*, *Aerobacter* and proteolytic gramnegative rods in milk. « Journ. Bact. », 1937, 34, 348.
- (44) *Leahy H. W.* - A comparison of brilliant green lactose bile and formate ricinoleate media for the detection of the *Escherichia* - *Aerobacter* group in milk and ice cream. « Journ. Bacter. », 1937, 34, 438.
- (45) *Luther A. B. and Klinger M. E.* - A comparison of media for the detection of *Escherichia* *Aerobacter*. « Journ. Bact. », 1936, 31, 171.
- (46) *Lipska I.* - Etudes biochimiques sur les bacilles du groupe coli-aerogenes du lait. « Le Lait », 1934, 14, 673;
- (47) *Levine M.* - On the significance of the Voges-Proskauer Reaction. « Journ. Bact. », 1916, 1, 153.
- (48) *Levine M.* - The correlation of the Voges-Proskauer and Methyl-red reaction in the Coli-aerogenes group of Bacteria. « Journ. Inf. Dis. », 1916, 18, 358.
- (49) *Lerner M.* - Une methode de titrage du « *Bacterium coli* » dans le lait, le babeurre, le fromage. « Le lait », 1935, 15, 833.
- (50) *Leifson E.* - New culture media based on sodium desoxyholate for the isolation of intestinal pathogens and for the enumeration of colon bacilli in milk and water. « Journ. of Path. and Bact. », 1935, 40, 581.
- (51) *Lehmann e Neumann.* - « Bakteriologische Diagnostik », München, 1927.
- (52) *Lepanto P.* - Il contenuto del latte in coli-bacilli ad altri germi a Trapani. «L'Igiene Moderna», Genova, 1931.
- (53) *Marschall H.* - Die praktische Auswirkung der Untersuchungsmethode auf die Höhe des ermittelten Coli-Aerogenes Gehaltes von Milch und Milchprodukten. « Oesterr. Milchw. Zeit. », 1934, 41, 313.
- (54) *Mc. Crady M. H. and Archambault J.* - Examining dairy products for members of the *Escherichia* *Aerobacter* group. « Amer. Journ. Publ. Health » 1934, 24, 122.
- (55) *Minkewich. J. E.* - Zur Bestimmung der Coli-aerogenes Titters in Milch. « Zentralbl. f. Bakter. ». Abt. I, 1932, 125, 125.
- (56) *Miller N. J. and Prikett P.* - Note on violet red bile agar for detection of *Escherichia coli*. « Journ. of Dairy Sci. », 1938, 21, 559.
- (57) *Malcolm, G. F.* - The types of Coliform Bacteria in Bovine Faeces. « Journ. Dairy Res. », 1935, 6, 383.

- (58) *Matuszewski T.* und *Supinska J.* - Ueber die quantitative Auswertung der Coli Titors. «Zentralbl. f. Bakter», II, 1937, 96, 369.
- (59) *Mc. Conckey A.* - Lactose fermenting Bacteria in faeces. «Journ. Hyg.», 1905, 5, 333.
- (60) *Mc. Conckey A.* - Bile salt media and their advantages in some bacteriological examinations. «Journ. Hyg.», 1908, 8, 322.
- (61) *Mc. Crady.* - Tables for rapid interpretation of fermentation tube results. «Journ. Publ. Health.». Toronto, 1918, 9.
- (62) *Mc. Conckey A.* - Further observations on the differentiation of lactose fermenting bacilli with special reference to those of intestinal origin. «Journ. Hyg.», 1909, 9, 86.
- (63) *Neri F.* e *Simonetti A.* - Sulla presenza e sul significato del coli nel latte. «Annali d'Igiene», 1930.
- (64) *Oeser H.* - Bacterium Coli in der Milch. Ein Beitrag zur Erforschung der Coli-aerogenes Gruppe. «Zentralbl. f. Bakter.». II, 1937, 96, 287.
- (65) *Phyllis Kon.* - «Journ. Dairy Res.», 1933, 4, 206. Cit. da Demeter e Sauer. «Milchw. Forsch.», 1934, 16, 236.
- (66) *Rogers Clark* and *Davis.* - The colon group of Bacteria. «Journ. Inf. Dis.», 1914, 4.
- (67) *Renco P.* - Ricerca quantitativa del gruppo coli-aerogenes nel latte. «Annali dell'Istituto Sperimentale di Caseificio di Lodi», 1937, 7.
- (68) *Renco P.* - «Microbiologia del latte e dei latticini». U. Hoepli, Milano, 1939, p. 703 e 316.
- (69) *Rochaix* e *Dufourt A.* - Remarques sur la réaction du neutral-toth. «C. R. de la Soc. de Biologie», 1910, 29 octobre.
- (70) *Ruchhoft C. C.*, *Kallas I. G.*, *Chinn B.*, and *Coulter E. W.* - Coli-aerogenes differentiation in water analysis. I-II. «Journ. Bact.», 1931, 21, 407 e 22, 125.
- (71) *Stark C. N.* and *England C. W.* - Formate ricinoleate broth a new medium for the detection of Colon-organisms in water and milk. «Journ. Bact.», 1935, 29, 26.
- (72) *Stark C. N.* and *Curtis L. R.* - Evaluation of certain media for the detection of colon organisms in milk. «Am. Journ. of Publ. Health», 1936, 26, 354.
- (73) *Stark C. N.* and *Curtis L. R.* - A critical study of some media used for the detection of colon organisms in water and milk. «Journ. Bact.», 1935, 29, 27.
- (74) *Sherman I. M.* and *Wing H. U.* - The significance of colon Bacteria in milk, with special reference to standards. «Journ. Dairy Sci», 1933, 16, 165.

- (75) *Shunk I. V.* - Comparative studies of presumptive test media for the Coli-aerogenes group of bacteria. « Journ. Bact. », 1935, 29, 163.
- (76) *Syrocki A. V., Fuller I. E. and France R. L.* - Acid production by the Escherichia-Aerobacter group of Bacteria as indicated by dissolved metallic Iron. « Journ. Bact. », 1937, 33, 185.
- (77) *Singer E.*- Bacterium Coli im Wasser. « Zentrabl. f. Bakter ». Ab. I, 1932, 124, 32.
- (78) *Standard Methods of Milk Analysis.* - « Amer. Publ. Health Ass. » New York, 1934.
- (79) *Salle A. J.* - A system for the bacteriological analysis of water. « Journ. Bact. », 1930, 20, 381.
- (80) *Swenarton J. C.* - Can B. coli be used as an index of the proper pasteurization of milk. « Journ. Bact. », 1927, 13, 419.
- (81) *Vassileff T.* - Recherche et numération du coli-bacille dans le lait par la méthode du rouge neutre. « Le Lait », 1932, 12, 181.
- (82) *Van der Reis.* - Die Wirkung menschlicher un tierischer Galle auf Bakterien. « Zentrabl. f. Bakter ». I. Abt., 1921, 86, 337.
- (83) *Vaughn R. and Levine M.* - Effect of temperature and boric acid on gas production in the colon group. « Journ. Bact. », 1935, 29, 24.
- (84) *Werkman C. H.* - An improved technic for the Voges-Proskauer test. « Journ. Bact. », 1930, 20, 121.
- (85) *Williams O. B. and Morow M. B.* - The bacterial destruction of acethylmethylcarbinol. « Journ. Bact. », 1928, 16, 43.
- (86) *Wilson G. S.* - «The bacteriological gradipg of milk », 1935, p. 174.
- (87) *Yale M. W.* - Comparison of solid with liquid media as a means of determining the presence of lactose fermenting bacteria in pasteurized milk. « Amer. Journ. Publ. Health », 1937, 27, 564.
- (88) *Yale M. W.* - Confirmation of test for the Escherichia-Aerobacter group in pasteurized milk. « Journ. Bact. », 1937, 33, 449.
- (89) *Yale M. W.* - The Escherichia-Aerobacter Group of Bacteria in Dairy Products. « Journ. Dairy Sci », 1933, 16, 481.
- (90) *Zavagli V.* - I germi del gruppo Coli-aerogenes nel latte. «Annali d'Igiene », 1933, Anno XLIII, fasc. I.

INDICE ANALITICO

	PAGINA
Acetil - metil - carbinolo, presenza di — nei foraggi insilati	45-47
Acetoina dei lieviti alcoolici	117-122, 293-294
— formazione di — ad opera della carboligasi	45
— presenza di — nei foraggi insilati	46-47
Acidificazione del latte per opera di fermenti lattici	214-223
— processi di — nei foraggi insilati	15-31, 65-84, 177-191
Acidità dei succhi vegetali, difesa delle piante a mezzo dell' —	145-152
— volatile, vedi: Acidi volatili	
Acidi presenti nelle piante	144-148
— volatili, produzione di — dei lieviti apiculati	117-122
— — — nella vinificazione	117-19, 273-274
Acido acetico, presenza di — nei foraggi insilati	17
— glicerico, fermentazione dell' — ad opera del <i>B. lactis aërogenes</i>	45
— lattico, presenza di — nei foraggi insilati	17-18, 65
— pantotenico, sintesi dell' —	212
Actinomiceti del terreno	53, 58-60, 103
<i>Aegerita crustacea</i>	166
<i>Aerobacter aërogenes</i>	45
— — ed <i>Escherichia coli</i>	275-286
— — presenza dell' - nel latte	85-95, 295-315
— — — — nelle feci	275
Aerobi, simbiosi fra — ed anaerobi	106
Agglutinazione da proteine vegetali	142
Agglutinine, presenza di — nei vegetali	142-144
Alcali, microrganismi — tolleranti e macerazione	240-268
<i>Alcaligenes</i> (Conn, Wolfe e Ford)	240-250
Alcool carburante da sorgo zuccherino	228
Alghe, simbiosi fra — ed azotobatteri	106
Alimentazione delle bovine e carica batterica del latte	85-95
Amebe, presenza di — nelle colture di cellulolitici	225-226
Amilodiastasi da <i>Aspergillus oryzae</i> , azione dell' - negli impasti di farina	39-43
Ammassi schizomicetici glomerulari nel terreno	49, 50 52, 61
Ammoniaca, ossidazione dell' - microbi agenti dell' -	100
<i>Ampelodesma mauritanica</i> macerazione dell' -	240-268

Anaerobi dei foraggi insilati	15, 18, 182-191
— fattori di accrescimento degli	108
— simbiosi fra — ed aerobi	106
Antagonismi microbici nel terreno	59, 104-105
Anticorpi dei vegetali	142-144
Antigeni, assorbimento di — nei vegetali	144
Apiculati, vedi: Lieviti apiculati	
Aspergilli, amilodiasi da —	39-40
— presenza di — nel terreno	100
<i>Aspergillus oryzae</i>	39-43
Autodepurazione degli ortaggi	139-152
Auxine, formazione delle	108-109
— sensibilità dell' <i>Azotobacter</i> alle —	109
Azoto atmosferico, fissazione dell'— nel terreno	100, 104-106
<i>Azotobacter chroococcum</i>	109
Azotobatteri, attività degli — nel terreno	100, 104, 106
— simbiosi contratte dagli —	106
Bacilli sporigeni del terreno	58
<i>Bacillus acidi lactici</i> vedi: <i>Escherichia coli</i> var. <i>acidi lactici</i>	
— <i>acidophil - aërogenes</i>	78
— <i>Beijerinckii</i>	79
— <i>brassicae fermentatae</i>	77
— <i>carotovorus</i>	245
— <i>cloacae</i>	285
— <i>cucumeris fermentati</i>	79
— <i>Delbrückii</i>	81
— <i>dysenteriae</i> Shiga, vedi: <i>Shigella dysenteriae</i>	
— <i>fossicularum</i> (Omelianski)	103
— <i>lactis acidi</i>	81
— <i>Leichmanni</i>	79
— <i>Listeri</i>	79
— <i>Maerckii</i> , vedi: <i>Lactobacillus plantarum</i>	
— <i>mesentericus</i>	281
— <i>vulgatus</i>	163, 250
— <i>metanigenes</i> (Omelianski)	103
— <i>pabuli acidi</i>	79
— <i>panis fermentati</i>	77
— <i>prodigiosus</i>	142
— <i>subtilis</i>	58
— <i>typhosus</i> , vedi <i>Eberthella typhosa</i>	
— <i>Wortmannii</i>	79
<i>Bacterium aërogenes</i> vedi: <i>Aerobacter aërogenes</i>	
— <i>busae-asiaticae</i>	79
— <i>bulgaricum</i> vedi: <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	
— <i>casei</i>	81

<i>Bacterium coli</i> , vedi: <i>Escherichia coli</i>	
— <i>aceti</i>	136-138
— <i>faecale alcaligenes</i>	247-248
— <i>fluorescens</i> .	301
— <i>Freudenreich</i>	81
— <i>lactis aerogenes</i>	145-148, 286
— — — vedi anche: <i>Aerobacter aerogenes</i>	
— <i>neapolitanum</i>	286
— <i>Soya</i>	78
— <i>tumefaciens</i>	140-141
Batteri acidificanti dei foraggi insilati	15-31, 65-84, 177-191, 213-223
— — dei formaggi molli	155-163
— acidogeni coagulanti del latte	212
— — non coagulanti del latte	212
— acidoproteolitici dei formaggi molli	157-163
— alcaligeni del latte	212
— anticaseari, vedi: Butirrici	
— del terreno	49, 53, 58-61, 97-112
— — — cultura dei —	101-102
— proteolitici dei formaggi molli	157
— — del latte	212
Batteriofagia, microrganismi del terreno e —	110
Batteriorizze, funzione delle —	110
<i>Betabacterium breve</i>	77
Bevande fermentate preparate con latte	3-13
Bietola, fermentazione alcoolica del succo di —	228-233
«Bios », studi sul —	108, 212
Birra, lieviti per —	269-270
Blastomiceti agenti della trasformazione del succo di palma in Laghbi	123, 126, 137-138
— dei lieviti casalinghi, studi sui —	33, 35-43
— ricerche chimiche sui —	269-274
— simbiosi fra schizomiceti e — nel Kos albanese	4
— vedi anche: Saccaromiceti	
<i>Botrytis cinerea</i>	143
Burro e infezione tubercolare	192-201
Butirrici, presenza di — nei presami di vitello	211
— — — nel latte	85-95
— — — nel pannello di semi di pomodoro Cagliata,	176
tenacità della — misurazione della —	210-211
Carboligasi, attività della —	45, 119
CARBONE DOMENICO (1880-1940) Necrologio	113-116
Carica batterica del latte, variazioni stagionali della —	85-95
— — — — ed infezione tubercolare	192-201
Cavolo, penetrazione nel — del <i>Plasmadiophora brassicae</i>	140

Cellulosa, scomposizione della — nel terreno	103
Cellulosolitici, presenza di amebe nelle colture di —	225-227
— — di protozoi nelle colture di —	225-227
— aerobi, attività dei —	103, 235-239
— — presenza di — nell'intestino degli erbivori	103
— — — — — delle termiti	103
Cellvibrio, nuove specie di —	235-239
<i>Cellvibrio aurantiacus</i>	235-238
— <i>flavescens</i>	235-238
— <i>fulva</i>	235-238
— <i>minuscola</i>	235-239
— <i>ochracea</i>	225, 235-238
— <i>rosea</i>	235-239
— <i>violacea</i>	235-238
— <i>vulgaris</i>	235-238
Chefir, caratteristiche e preparazione del —	4, 11-12
<i>Choetonium Oospora</i>	166
<i>Chromobacterium</i>	248
Ciglia batteriche, colorazione delle — metodo di Neri per la —	175-176
<i>Ciliophora</i>	254
Citofaghe, attività delle —	103
— presenza di protozoi nelle colture di —	225-226
— studi sulle —	235-239
<i>Citrobacter</i>	286
<i>Clostridium pasteurianum</i>	106
Coccacee dei formaggi molli	157-163
— del terreno	58
Colorazione delle ciglia batteriche, metodo di Neri per la —	175-176
Conservazione dei foraggi, vedi: Foraggi insilati	
Cumis, caratteristiche e preparazione del	4
<i>Cytophaga</i>	103, 225-226, 235-239
<i>Debaryomyces</i> sp.	272-273
Deidrogenasi microbica	104
Disgenesia del latte	220-223
<i>Eberthella typhosa</i> , sostanze vegetali agenti sulla —	142-144, 148
Emoagglutinine dei vegetali	142
Enzimi, attività degli — microbici	15, 17, 19, 26, 27, 98-99, 105
— delle farine, studi sugli —	34
— proteolitici del lievito panario, attività degli —	33-43
Erba di marcita, alimentazione delle bovine con — e microflora del latte	85-95
Erbivori, presenza di cellulosolitici nell'intestino degli —	103
<i>Escherichia alcalescens</i>	247-248
— <i>anindolica</i>	247-248
— <i>coli</i>	109, 243-248, 275, 286
— — differenziazione dell' — dal <i>Bact aerogenes</i>	286

<i>Escherichia coli</i> , fermentazione dell'acido glicerico ad opera dell'-	45
— — potere antibatterico dei vegetali verso l' —	145-148
— — ricerca dell'- nel latte	176
— — var. <i>acidi lactici</i>	306
— — var. <i>comunior</i>	285-286
Eumiceti del terreno	49, 53, 58-60
Farine, enzimi delle — studi sugli —	34
Fattori di accrescimento, analogia fra — e vitamine	107
Feci, presenza di microrganismi del gruppo <i>coli-aerogenes</i> nelle —	295
Fermentazione acida dei foraggi insilati	15-31, 65-84, 177-191
— anaerobica dei foraggi insilati	15, 18
— della birra e del vino con lieviti puri	269-274
— dell'acido glicerico ad opera del <i>B. lactis aerogenes</i>	45
— del succo di bietola	228-233
— — — di sorgo zuccherino	228-233
— glucidica, formazione di acetoina nella —	45
— lattica dei foraggi insilati	16-18, 26, 29
— — di succhi zuccherini e melassi	212
— potere di — dei lieviti apiculati	117-122, 292-293
Fermenti agenti sul latte, presenza di — nel terreno	100
— lattici dei vegetali	16-17, 26, 29, 83
— — ed alcoolici delle bevande acido-alcooliche	4, 11-12
— — sviluppo in latte di —	213-223
— — veri e fermenti lattici dei foraggi insilati	72
— vedi anche: Batteri acidificanti dei foraggi insilati ---' Enzimi	
Lieviti	
Foraggi insilati, anaerobi dei —	15, 18, 182-191
— — batteri acidificanti dei —	65-84
— — fermenti lattici dei —	72
— — presenza di acetil-metil-carbinolo ed acetoina nel —	45-47
— — — di acido acetico nei —	17
— — — — lattico nei —	17-18, 65
— — processi di acidificazione nei	15-31, 65-84, 177-191
Formaggi molli italiani, ricerche microbiologiche sui —	153-174
Funghi simbiotici delle orchidee, sostanze attive contro i —	143
— penetrazione di — nel grano	140
Ginestra, macerazione della —	240-260
— di Spagna, vedi: <i>Spartium junceum</i>	
Gioddu, studi sul — sardo	4
Giogurt, preparazione del —	4
Glomeruli del terreno, vedi: Ammassi schizomicetici glomerulari	
<i>Humus</i> , formazione dell'- e sua evoluzione	100-103, 109
Idrogenazione dell'azoto molecolare	104
Ifomiceti dei formaggi molli	161-174
— del terreno, attività degli	97-112

	PAGINA
Immunità delle piante	139, 143-144
Insilamento, vedi: Foraggi insilati	
<i>Hansenula</i> sp.	272-273
— <i>nivea</i>	272
— <i>panis</i>	272
Jogurt ,vedi: Giogurt	
Kos albanese, microflora del - e sua preparazione .	3-13
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	81, 214-221
— <i>arabinosus</i>	79
— <i>brevis</i>	17, 77-78, 82-84
— <i>bulgaricus</i> (Lürssen e Kühn)	6-7, 11, 163, 214-222
— <i>conglomeratus</i>	79
— <i>densus</i>	79
— <i>lycopersici</i>	78
— <i>pentoaceticus</i>	17, 77
— <i>pentosus</i>	79
— <i>plantarum</i>	79-84, 214-215
— <i>sili</i>	81-84, 214-223
Laghbi, studi sul — tripolino	123-138, 292
Latte, acidificazione del—con fermenti lattici	214-223
— batteri proteolitici del —	212
— bevande acide preparate con	3-13
— carica batterica del —	212
— — — ed infezione tubercolare	192-201
— — — in rapporto alla stagione	85-95
— conservazione del — per analisi	212
— condensato, difetti del —	212
— disgenesia del —	220-223
— pastorizzazione del — ricerca del <i>B. coli</i> e —	176
— — — tubercolosi e —	195, 201
— presenza del <i>Bact. coli</i> e del <i>Bact. aerogenes</i> nel —	275-295
— — di butirrici nel —	85-95
— — di lieviti nel —	90
-- sviluppo in — di fermenti lattici	213-223
Lattobacilli dei foraggi insilati, vedi: Batteri acidificanti dei foraggi insilati; <i>Lactobacillus</i>	
— di tipo <i>bulgaricus</i> , differenza fra — e batteri acidificanti dei foraggi insilati	29
Leben, preparazione in Egitto del cosidetto —	4
Leguminose, fissazione dell'azoto atmosferico e	100, 104
— tubercoli radicali delle —	104, 202-209
— vedi anche: Soja	
<i>Leuconostoc herbarum</i> , caratteri del -	78, 82-84
— <i>mesenteroides</i>	78
Lievitazione panaria, ricerche sulla —	33-43

Lieviti alcoolici, acetoina dei —	117-122, 273-274
— apiculati, attività fermentativa dei —	117-122, 272-273
— elittici, attività fermentativa dei — e degli apiculati	117-122, 123
— — — — sul succo di palma	123
— moltiplicazione ed attività fermentativa dei —	228-229
— per birra	269-270
— per Laghbi	272
— per pane	272
— — — casalinghi, ricerche su campioni di —	33-43
— — — enzimi proteolitici dei — attività degli —	33-43
— per vino, vedi: Saccaromiceti	
— per birra	269-270
— presenza di — nel terreno	100
Lignina, scomposizione della — nel terreno	103
Linfa dei vegetali, studi sulle proprietà della-	141, 143-144
Lisine, presenza di — nei vegetali	143
Macerazione, modalità di — delle fibre tessili	240-268
	163
<i>Mammococcus II</i>	153-154
Maturazione e stagionatura dei formaggi molli	4
Mazun armeno, preparazione del —	192-201
Micobatteri della tubercolosi, presenza di — nel burro	142
— — — sostanze vegetali agenti sui —	110
Micorizzia, studi sulla —	163
<i>Micrococcus acidi lactis liquefaciens</i>	80
— <i>acidovorax</i>	163
— <i>casei acido-proteolyticus I</i>	163
— <i>caseolyticus.</i>	163
— <i>lactis acidi</i>	80
— <i>malolacticus</i>	80-84
— <i>pratensis</i>	80
— <i>varzococcus</i>	240-268
Microrganismi alcali-tolleranti e macerazione	4-13
del Kos albanese	88-99, 105
— enzimi dei —	106-109
— fattori di accrescimento dei —	100
— maceranti, presenza di — nel terreno	139-152
— penetrazione di — nei tessuti vegetali	259
— pseudomaceranti, attività dei —	97-112
— termofili, attività dei —	
Microflora del latte, vedi: Carica batterica del latte	269-274
Mosaico del tabacco, vedi: Virus del mosaico del tabacco	117-122
Mosto d'uva, fermentazione del —	166
— — — — con lieviti apiculati	
<i>Mucor crustaceus</i>	

Muffe dei formaggi molli	154-155, 163-174
-- del latte	90
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	142, 192-201
<i>Mycotorula albicans</i>	272-273
Myxobatteri del terreno	103
Nitrati, riduzione dei — ad opera dei microrganismi del terreno	100
Noduli radicali, vedi: Tubercoli radicali	
Odori anormali del latte condensato	212
<i>Oidium rubens</i>	166
<i>Oospora crustacea</i> .	163-172
Ormoni vegetali, vedi: Auxine	
Ortaggi, autodepurazione degli —	139-152
Orzo tallito, accrescimento batterico ed —	212
Ossidazione dell'ammoniaca, microbi determinanti l'—	100
— dello zolfo, microbi determinanti l'—	100
Palma, succo di — trasformazione in Laghbi del —	123-138
Pane, lieviti per —	272
Pannello di semi di pomodoro, microrganismi presenti nel —	176
Pastorizzazione del latte, ricerca del <i>B. coli</i> e —	176
— — — tubercolosi e —	195-201
Pectinasi, ricerca della —	245-247
Pectinolitici, attività dei —	245-259
Pectolasi, ricerca della —	247
<i>Pediococcus acidi lactici</i>	80
— <i>damnosus</i>	80
<i>Penicillium candidum</i>	163
<i>Phoenix dactylifera</i> , produzione di Laghbi da succo di —	123-138
<i>Phytomonas</i> sp.	248
— <i>tumefaciens</i>	248
— <i>rhizogenes</i>	248
Piante, acidità dei succhi delle —	144-152
— difesa chimica delle — contro i microrganismi	145-152
— immunità delle —	139, 143-144
— penetrazione di germi nelle —	139-152
— simbiosi fra — e microrganismi	106
— vaccinazione delle —	143
— vedi anche: Vegetali	
<i>Plasmadiophora brassicae</i>	140
<i>Plocamobacterium bulgaricum</i>	244
Potere agglutinante della linfa dei vegetali	143
— antibatterico dei vegetali	139-152
— antiemolitico della linfa dei vegetali	143
Precipitine, presenza di — nei vegetali	142-144
Presami di vitello, indagini sui —	211
<i>Propionibacterium pentosaceum</i>	108

	PAGINA
Proteasi delle farine, azione della —	34
Proteine vegetali, agglutinazione da —	142
Proteolitici sporigeni presenti nel pannello di semi di pomodoro	176
Protozoi del terreno	49
— presenza di — nelle colture di cellulolitici	225-227
Pseudomaceranti, attività dei microrganismi —	259
Pseudomacerazioni; e pseudomaceranti	255-259
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	58
<i>Pseudosaccharomyces apiculatus</i>	118-122, 272-273
— <i>magnus</i>	272-273
Quartirolo di monte, ricerche microbiologiche sul —	153-174
Reazioni umorali nei vegetali	139-152
<i>Rhizobium</i> sp.	248
— <i>radicicola</i>	104, 109, 202-209
<i>Saccaromicetaceae</i> vedi: <i>Saccharomyces</i> - Saccaromiceti	
Saccaromiceti, fermentazione del vino e —	289
— produzione d'alcool dei -	272-273
<i>Saccharomyces apiculatus</i>	118-122
— <i>Carlsbergensis</i> var. <i>monacensis</i>	130, 134, 136-138, 272
— — — <i>valdensis</i>	135-136, 138, 272
— <i>cerevstae</i>	35-42, 269
— <i>ellipsoideus</i>	272-273
— — var. <i>umbra</i>	272-273
— — — <i>mator</i>	272-273
— — vedi anche: Lieviti elittici	
— <i>exiguus</i>	272-273
— <i>italicus</i>	272
— <i>Laghbi</i>	123, 128, 132, 136-138, 272-273
— <i>oviformis</i>	272-273
— <i>Pastorianus</i>	272-273
— <i>Rouxii</i>	272
— <i>uvarum</i>	272-273
<i>Saccharomycodes Ludwigii</i>	272-273
Saggio lattozimoscopico, risultati del —	85-95
Salmonelle, sviluppo di — nei terreni nutritivi a base di ricinoleati e formiati	303
Schizomiceti agenti della trasformazione del succo di palma in <i>Laghbi</i>	123, 126, 137-138
— dei formaggi molli	153-174
— dei lieviti casalinghi	33
— del latte	85-95, 275-295
— del terreno	49, 50, 58-59, 97-112
— simbiosi fra blastomiceti e — nel Kos albanese	4
<i>Schizosaccharomyces Pombe</i>	129-133, 136-138, 272-273
<i>Shigella dysenteriae</i> , sostanze vegetali agenti sulla -	145-148

Silaggio, vedi: Foraggi insilati	
Simbiosi batteriche nel terreno	104-108, 110
— fra blastomiceti e schizomiceti nel Kos albanese	4
— fra piante e microrganismi	106
Soja, coltivazione della —	202-209
— semi di — trattamento dei — con <i>B. radicolica</i> specifico	202-209
<i>Sorangium compositum</i>	103
— <i>nigrescens</i>	103
Sorgo zuccherino, fermentazione alcoolica del succo di —	228-233
<i>Spartium junceum</i> , macerazione biologica dello -	240-260
<i>Sporotrichum Carougeani</i>	272-273
Stafilococco aureo, potere antibatterico dei vegetali verso lo —	145, 148
Streptobatteri del Kos albanese, studio dei —	5-7
<i>Streptobacterium plantarum</i>	17, 79-80, 214-215
Streptococchi lattici, azione della tripaflavina sugli —	282
— — del Kos albanese	5, 7-8
— — differenza fra — e batteri acidificanti dei foraggi insilati	29
— — numero di — presente nel latte	90
<i>Streptococcus lacticus</i>	163, 214-222, 281
— <i>lactis</i>	7-8, 11
— <i>thermophilus</i>	7, 11
Streptotriccee del terreno	49
Succhi vegetali, difesa delle piante a mezzo dei —	145-152
— — proprietà antibatteriche dei —	139-152
Taleggio, ricerche microbiologiche sul —	153-174
Termiti, presenza di cellulolitici nell'intestino delle —	103
Terreni nutritivi per i microrganismi del gruppo <i>coli-aerogenes</i>	275-295
Terreno, antagonismi microbici nel -	59, 104-105
— fermenti agenti sul latte, presenti nel —	100
— fissazione dell'azoto atmosferico nel	100, 104-106
— microbi del — e loro attività	49-61, 97-112
— scomposizione della cellulosa nel -	103
— — della lignina nel -	103
<i>Thermobacterium bulgaricum</i>	81, 301
— <i>cereale</i>	81-82
— <i>helveticum</i>	81, 301
— <i>intestinale</i>	81
— <i>jugurt</i>	81
— <i>lactis</i>	81-82, 281
— <i>mathiacolla</i>	212
<i>Torula casei</i>	166
<i>Torulopsis Holmii</i>	8-13, 272-273
— <i>lactis</i>	272-273
— <i>pulcherrima</i>	120, 272-273
<i>Trichoderma lignorum</i>	106

	PAGINA
<i>Trichosporon</i> sp.	272-273
Trifoglio ladino, insilamento del —	179-189
Tripaflavina, azione della — sugli streptococchi lattici	282
— — — sui bastoncini lattici	282
— — — sugli stafilococchi	282
— — — sul <i>B. subtilis</i>	282
Tubercoli radicali, produzione di — nelle leguminose	104, 202-209
Vaccinazione delle piante	143
Vegetali, agglutinine dei —	142-144
— anticorpi dei —	142-144
— proprietà antibatteriche dei succhi —	139-152
— Vedi anche: Piante	
Vibrione colerigeno, sostanze vegetali agenti sul —	142, 144, 148-149
<i>Vigna sinensis</i> , insilamento di —	189-191
Vino, lieviti per —	269-274
— produzione di acidi volatili durante la preparazione del —	117-119, 273-274
— di palma, vedi: Laghbi tripolino	
Virus del mosaico del tabacco, anticorpi precipitanti il —	143
— — — immunità verso il —	143
Vitamine e fattori di accrescimento, analogia fra —	107
Vite, tralci di — macerazione dei —	243-260
Zimasi dei lieviti apiculati	117
Zolfo, ossidazione dello —, microbi determinanti l' —	100

INDICE DEGLI AUTORI

	PAGINA
Antoniani C. - Candia A. - Castelli T.	117
Arnaudi C.	97, 113
Arnaudi C. - Corberi E. - Soares Rodrigues H.	153
Bernelli E.	192
C. A.	1
Candia A. - Antoniani C. - Castelli T.	117
Castelli T.	3, 202, 269
Castelli T. - Antoniani C. - Candia A.	117
Castelli T. - Simoni A.	123
Corberi E.	85
Corberi E. - Arnaudi C. - Soares Rodrigues H.	153
Emiliani E.	228
Marinelli G. - Mazzeo M.	139
Mazzeo M.- Marinelli G.	139
Pepoli G.	33
Pepoli G. - Politi I.	177
Piazza L.	45
Politi I.	15, 65, 175, 210, 213
Politi I. - Pepoli G.	177
Renco P.	275
Riccardo S.	49, 240
Simoni A. - Castelli T.	123
Soares Rodrigues H. - Arnaudi C. - Corberi E.	153
Verona O.	225, 235

BANCO DI SICILIA
ISTITUTO DI DIRITTO PUBBLICO

122 SEDI E AGENZIE

L'ISTITUTO RACCOGLIE
DEPOSITI A RISPARMIO
E IN C/C FRUTTIFERO
E COMPIE TUTTE LE
OPERAZIONI DI BANCA

OLTRE MEZZO MILIARDO
DI FONDI PATRIMONIALI

BANCO DI ROMA

BANCA DI INTERESSE NAZIONALE

SOC. AN. CAPITALE E RISERVA LIT. 358.000.000

ANNO DI FONDAZIONE 1880

SEDE SOCIALE E DIREZIONE CENTRALE IN
ROMA

170 Filiali in Italia, in Libia e nell'Egeo - 16 Filiali nel-
l'Impero - 18 Filiali e 3 Uffici di rappresentanza all'Estero

TUTTE LE OPERAZIONI DI BANCA

*L'apporto della SNIA VISCOSA al
conseguimento dell'autarchia tessile:*

CELLULOSA NOBILE

*La materia prima per la
produzione delle fibre
tessili artificiali.*

•

RAION E FIOCCO

*I tessili artificiali
preferiti dagli italiani.*

•

L A N I T A L

La nostra lana.

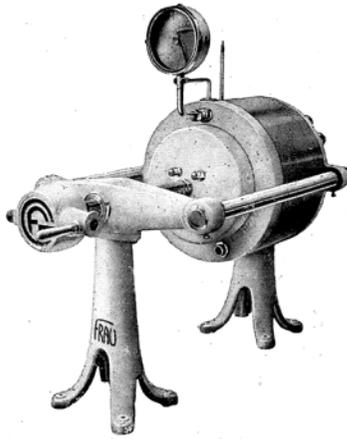
SNIA VISCOSA

MILANO - VIA CERNAIA, 8 - MILANO

PASTORIZZATORE
STRATIFICATORE
RECUPERATORE
REFRIGERANTE PER LATTE

F R A U

THIENE



COSTRUZIONE DI TUTTE LE MACCHINE PER
L'INDUSTRIA ED IL TRATTAMENTO IGIENICO
DEL LATTE

BESTIAME SANO E ROBUSTO

Le normali razioni alimentari
per il bestiame devono essere
in ogni caso integrate con

FOSFATO DI CALCIO PRECIPITATO

il sale minerale che concorre
alla formazione ed all'irrobusti-
mento delle ossa ed, in genere,
a migliorare tutto l'organismo
animale. Gli allevatori di be-
stiaime devono richiedere il

FOSFATO DI CALCIO PRECIPITATO

direttamente, prontamente e
totalmente assimilabile, specia-
le preparato della

“ M O N T E C A T I N I ”

SOC. GENERALE PER L'INDUSTRIA MINERARIA E CHIMICA
MILANO, VIA PRINCIPE UMBERTO 18