ATTI

DELLA

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXV.

1918

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXVII.

1° SEMESTRE.

ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1918

Microbiologia. — *Sopra una diffusa alterazione batterica del pane.* Nota di R. Perotti e J. Comanducci, presentata dal Socio G. Cuboni.

Nei mesi dal maggio al luglio del decorso anno, si lamentarono dalla cittadinanza romana, con grande frequenza, notevoli casi di alterazione del pane confezionato nei forni della città. Il pane che, in conformità alle disposizioni tuttora vigenti, era venduto raffermo di un giorno, presentava, nella sua parte centrale, una zona grigiastra di alterazione più o meno vasta; di colore più scuro verso il centro della mollica, degradante alla periferia, umida più che le parti circostanti, vischiosa ed appiccicaticcia al tatto. In detta zona, gli alveoli non erano più individuabili, e la massa della mollica tendeva a presentarsi compatta, emanando un odore molto sgradevole.

Mantenendo il pane così alterato per altre 24 ore in camera umida, la mollica appariva completamente e profondamente trasformata in un ammasso grigiastro, filamentoso, di odore addirittura nauseante.

Il pane risultava, fin dopo le prime 24 ore, immangiabile. I reclami di cui avemmo contezza da parte dell'ufficio d'igiene, si succedettero nel periodo di tempo suaccennato, quasi giornalmente; essi si riferivano ad un numero piuttosto limitato di panifici, e quasi sempre agli stessi.

L'alterazione lasciava sospettare fin dal principio trattarsi di un'infezione, che, all'esame preliminare della zona alterata, risultò di natura batterica. Difatti, all'esame microscopico diretto, si riscontrarono abbondantissime forme batteriche più o meno allungate, ad estremità ottuse, immobili.

Procedutosi all'isolamento di questa forma, su agar di fagioli, comparvero, entro le 24 ore, numerosissime colonie dimostranti un rigoglioso sviluppo. Esse assumevano due diversi aspetti: le une erano dendritiche e le altre subrotonde, ma entrambi membranose anucleate, di color bianco opaco.

Del microrganismo si fecero passaggi in brodo di fagioli e in brodo di carne. Nel primo si sviluppò molto rapidamente ed abbondantemente fin dalle prime 24 ore, iniziandosi la coperta in superficie e deposito al fondo. Nel brodo di carne lo sviluppo fu alquanto più lento, ritardandosi la formazione della coperta e scarseggiando il deposito al fondo. Il liquido culturale si presentava, dopo una settimana, torbido nel primo caso e limpido nel secondo.

In cultura liquida la forma appariva nettamente bacillare, costituente lunghi fili e misurante:

nel brodo di carne, in media, μ 5 per 1.2
nel brodo di fagioli » μ 3 per 1,2

In culture su substrati solidi, invece, la forma appariva raccorciata ed ingrossata; in alcuni casi, sporulata. Le dimensioni in lunghezza erano all'incirca la metà della media surriferita, mentre il diametro trasversale era presso a poco uguale o leggermente aumentato.

I substrati solidi impiegati furono: agar al peptone, agar di fagioli, gelatina di carne. Quest'ultima viene fluidificata.

La culture in infissione, sia in gelatina che in agar al peptone, dimostrarono sviluppo più rapido e abbondante lungo il canale che in superficie. Nella parte più bassa del canale, però, lo sviluppo si attenuava sensibilmente. Trattasi quindi di una forma *anaerobia facoltativa*. Prende il Gram e resiste alla decolorazione con alcool per due minuti. Essa pertanto si presentava per molti caratteri affine al *Bacillus mesentericus vulgatus* Flügge; ma con essa non era identificabile. Questo bacillo è stato riconosciuto causa di una alterazione del pane, specificata con il nome di « pane filante ». Non ci risulta però che detta alterazione, fino ad ora, sia stata segnalata in Italia. In Roma, particolarmente, essa assunse, nel periodo dal maggio al luglio decorso, una grande diffusione.

Frequente e temuta è invece nei paesi del nord, dove è stata studiata fino dal 1885, alla cui epoca risale la prima osservazione che si deve a E. Laurent (1) che l'ascrisse al *Bacillus panificans*, il cui sviluppo doveva esser favorito dalla leggera acidità della pasta. In seguito F. Kretschemer e Niemilowicz (2) ritennero causa dell'alterazione il *Bacillus mesentericus vulgatus* Flügge, insieme al quale J. Uffelmann (3) trovò il *Bacillus liodermos* Flügge. Nel 1897 J. Vogel (4) riferì su tre differenti specie di « bacilli della patata » isolati da 16 campioni di pane filante. Una sola di queste forme conferiva al pane la colorazione rossa; le altre due, invece, furono ritenute la vera causa dell'alterazione e furono indicate con il nome di *Bacillus mesentericus panis viscosi* I e II.

A. Juckenack (5), in un altro caso, riconobbe che l'alterazione era dovuta al *Bacillus mesentericus fuscus* Flügge. Finalmente F. Fuhrmann (6) descrisse una nuova specie che chiamò *Bacterium panis* della quale eseguì un confronto con il *B. mesentericus*, il *fuscus*, il *liodermos*, il *vulgatus* e le due forme del Vogel. Risulta nonpertanto dalla descrizione di questa

(1) E. Laurent, Bull. de l'Acad. Roy. des Sciences de Belgique, 1885, serie 3ª, vol. X, pag. 765.

(2) F. Kretschemer e Niemilowicz, Centr. f. d. mediz. vissensch., 1889, Bd. 27, pag. 727.

(3) J. Uffelmann, Centr. f. Bact., 1890, Bd. 8, pag. 481.

(4) J. Vogel, Zeitschr. f. Hyg.. 1897, Bd. 26, pag. 398.

(5) A. Juckenack, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs. u. Genusmittel, 1899, Bd. 2, pag. 786.

(6) F. Fuhrmann, Centralblatt f. Bakt., 2 Abt., 1905, Bd. 15, pag. 385.

specie, come essa sia molto affine al *Bacillus mesentericus panis viscosi* I del Vogel, altrimenti chiamato *Bacterium mesentericum*.

Che la forma da noi isolata fosse causa dell'alterazione su descritta risultò evidente dalle prove d'infezione all'uopo praticate.

Una prima prova si eseguì con tre culture in brodo di fagioli, due delle quali aventi 7 giorni di età, e la terza circa un mese. Il liquido di cultura si mescolò nelle proporzioni di 10 cmc. per circa 500 gr. d'impasto. I pani, che risultarono ben lievitati, furono estratti dal forno ben cotti. Questo primo esperimento d'infezione fu negativo. Un secondo esperimento di panificazione, infettando con la stessa proporzione di cultura giovane in brodo di fagioli, fu eseguito con quattro pani di circa gr. 500 l'uno. Due dei pani furono ben cotti mentre gli altri due si ritrassero dal forno pochissimo cotti. Soltanto in questi ultimi fu accertato microscopicamente lo sviluppo del bacillo inoculato; però lo sviluppo stesso non era tale da riprodurre i caratteri dell'alterazione del pane sopra descritti. Questi si manifestarono parzialmente, mantenendo una porzione di tali pani per 4 o 5 giorni in camera umida. Si procedette allora ad un terzo esperimento, inoculando nell'impasto proporzioni doppie di liquido culturale e non spingendone troppo oltre la cottura. Qui il risultato che si ottenne fu positivo e l'alterazione del pane filante fu esattamente riprodotta con i caratteri che abbiamo descritti.

Queste ricerche dimostrano dunque che le condizioni affinchè si ottenga l'alterazione del pane con la nostra forma batterica sono: la insufficiente cottura, che ha per conseguenza un elevato tenore in umidità del pane, e l'abbondante presenza del microrganismo infettante.

In quanto al veicolo dell'infezione, la discussione, per i casi altrove verificatisi, è ancora aperta. H. L. Russel [1] suppose, in un caso da lui studiato, che tale veicolo fosse il lievito infetto; ma gli altri sperimentatori ammisero che, generalmente, il bacillo del pane filante si trovasse in forma sporulata nelle farine. Infatti il Thomann [2] in un grammo di farina di segale avrebbe trovato 1400 germi di una forma riferibile al *Bacillus mesentericus panis viscosi* II.

Le nostre ricerche a tale riguardo, ci permettono di attribuire un maggior valore all'ipotesi del Russel, poichè risulterebbe necessaria una grande quantità di materiale infettante per riprodurre nelle migliori condizioni l'alterazione. Ora è più facile ammettere che in un lievito infetto il bacillo possa essere più abbondante che nelle farine. Supponendo altrimenti, non sarebbe facilmente spiegabile il fatto che l'alterazione si determinasse quasi sempre negli stessi panificî, e in numero relativamente limitato. Riteniamo

[1] H. L. Russel, 15 Ann. Rep. Agric. Exp. Station Univ. of Wisconsin, 1898, pag. 110.

[2] J. Thomann, Centr. f. Bakt., 2 Abt., 1900, Bd. 6, pag. 740.

tuttavia che il successo dell'infezione dipenda anche dalla qualità della farina impiegata, ciò che, secondo noi, rappresenterebbe una condizione di notevole importanza.

La comparsa dell'alterazione che si verificò in Roma, non soltanto nel periodo caldo dell'anno, ma anche in quel periodo in cui per cause a tutti note si dovettero impiegare farine variamente miscelate, e la circostanza inoltre, che l'alterazione cessò, si può dire improvvisamente, nonostante la calda stagione, e cioè verso la metà di luglio, quando si ritornò all'impiego di farine pure di frumento ottenute dal nuovo raccolto, avvalorano la nostra ipotesi della preponderante influenza della composizione della farina sul riprodursi dell'alterazione. È noto, infatti, che il *Bacillus mesentericus vulgatus*, cui indubbiamente la nostra forma è affine, preferisce per il suo sviluppo substrati piuttosto ricchi in sostanze albuminoidi, e la farina di frumento è, in proporzione, molto meno ricca di queste che la maggior parte delle farine di leguminose indubbiamente impiegate nelle miscele.

Concludiamo dunque questa Nota, affermando:

che la forma causante l'alterazione filante del pane, nella primavera dell'anno 1917 in Roma, è affine al *Bacillus mesentericus vulgatus* Flügge, forse identica al *Bacterium mesentericum* del Vogel, e alquante differente dal *Bacterium panis* del Führmann;

che fra le condizioni perchè si verifichi l'alterazione, è anzitutto quella della adatta composizione chimica delle farine e che, infine, il veicolo dell'infezione, almeno nel caso da noi studiato, è il lievito infetto.

Per evitare il notevole danno che per l'azione del microrganismo si verifica nella pratica della panificazione, oltre alla disinfezione degli utensili e dei locali in cui essa si manifestò nel decorso anno, occorrerà impiegare lieviti di buona preparazione, severamente controllati e, se dovrà continuarsi lo spaccio del pane raffermo, si dovrà conservare questo a temperatura piuttosto bassa.

Tenuto conto di un'altra alterazione del pane, dovuta all' *Oospora lactis*, da uno di noi recentemente studiata [1], riteniamo opportuno, in seguito al risultato delle presenti ricerche, far rilevare, come il fatto della resistenza dei germi, che si trovano nell'impasto, sia molto più frequente di quanto forse non è stato fino al presente sospettato e che di esso debba tenersi conto non solo per raggiungere il risultato di una buona panificazione, ma anche per prevenire i pericoli della diffusione dei germi delle malattie infettive.

[1] Ficai G. e Perotti R., *Sopra una alterazione del pane prodotta da lievito infetto con Oospora variabilis Lindner*. Rend. R. Acc. Lincei, vol. XXVI, serie 5ª 1° sem., fasc 9°, 1917.