

19. NUOVO METODO DI COLORAZIONE DEL BACILLO TUBERCOLARE.

Tutti i metodi impiegati per colorare elettivamente il *Mycobacterium tuberculosis* nei materiali patologici si basano sulla colorazione del preparato col liquido di Ziehl, successiva decolorazione — approfittando soprattutto dell'acido e alcool resistenza del germe — e ricolorazione o con bleu di metilene o con acido picrico. Si ottengono, così, i bacilli di Koch rossi su fondo azzurro o giallo.

Io propongo ora, dopo averlo sperimentato con successo, un nuovo semplicissimo e facile mezzo di colorazione basato sull'uso del verde di malachite in soluzione mordenzata, sulla decolorazione con solfito di sodio e sulla ricolorazione del fondo con soluzione di fucsina.

PREPARAZIONE DEL LIQUIDO COLORANTE.

Un grammo di verde di malachite, si mette in un piccolo mortaio di vetro, vi si aggiunge a poco a poco dell'alcool a 95° schiacciando accuratamente il colorante col pestello allo scopo di farlo sciogliere bene. Per avere la soluzione completa di un grammo di verde di malachite occorrono 12 cm³ di alcool a 95°.

La soluzione così ottenuta, si versa in 100 cm³ di acqua distillata a cui previamente erano stati aggiunti 5 cm³ di fenolo.

Il liquido che si ottiene costituisce il colorante pronto per l'uso.

Occorrono poi: una soluzione di solfito di sodio al 5 % (tale soluzione conservata in bottiglia gialla e chiusa, si mantiene attiva anche per 48 ore) ed una soluzione idroalcolica di fucsina basica.

Ecco come si procede per la colorazione:

- 1) Distendere il materiale sul vetrino, seccarlo, fissarlo.
- 2) Colorare per 3-5 minuti (secondo lo spessore del materiale) con la soluzione di verde di malachite riscaldando ripetutamente il vetrino (se il liquido entra in ebollizione il preparato non si danneggia).

- 3) Eliminare l'eccesso di colore e lavare abbondantemente.
- 4) Decolorare con la soluzione di solfito di sodio al 5 % (il materiale deve assumere colorazione biancastra con leggeri riflessi verdognoli); la decolorazione è istantanea adoperando soluzione fresca di solfito.
- 5) Eliminare immediatamente il solfito e lavare con acqua corrente per 15 secondi allo scopo di asportare ogni traccia del reattivo.
- 6) Ricolorare rapidamente con la soluzione idroalcoolica di fucsina.
- 7) Lavare e asciugare.

Con questo metodo si ottengono in pochi minuti bellissimi preparati in cui (vedi figura) i bacilli di Koch sono colorati in verde, tutti gli altri germi assumono colorazione rosso-vinosa più o meno intensa, i protoplasmi delle cellule si colorano in rosa, i nuclei in rosso vinoso, il fondo amorfo in rosa.

I bacilli verdi spiccano molto bene sul resto del preparato, sono facilmente reperibili, conservano intatta la propria struttura e la propria forma.

RIASSUNTO

Colorando uno sputo tubercolare con una soluzione di verde di malachite e fenolo, decolorando con una soluzione di solfito di sodio al 5 % e ricolorando con fucsina si ottengono bacilli tubercolari verdi su fondo rosa, tutti gli altri germi si colorano in rosso.

SUMMARIUM

Si quis sputum tuberculare admixtis viridi malachitidos colore et phoenolo coloraverit, deinde sodii, i.e. natrii, solutione vicensimana (5 %) decoloraverit, tum fuchsina iterum coloraverit, in fundo roseo virides bacillos tuberculares panciscetur: cetera germina rubro colore tincta apparebunt.

Roma. — Istituto di Sanità Pubblica - Laboratorio di Batteriologia.



