



M. A. M. S. S.

MINISTERO DELL'INTERNO

LABORATORI SCIENTIFICI DELLA DIREZIONE DI SANITÀ

DELLA

CONSERVAZIONE DEI VIRUS

IN GLICERINA

NOTA

DEL

Dott. ACHILLE SCLAVO

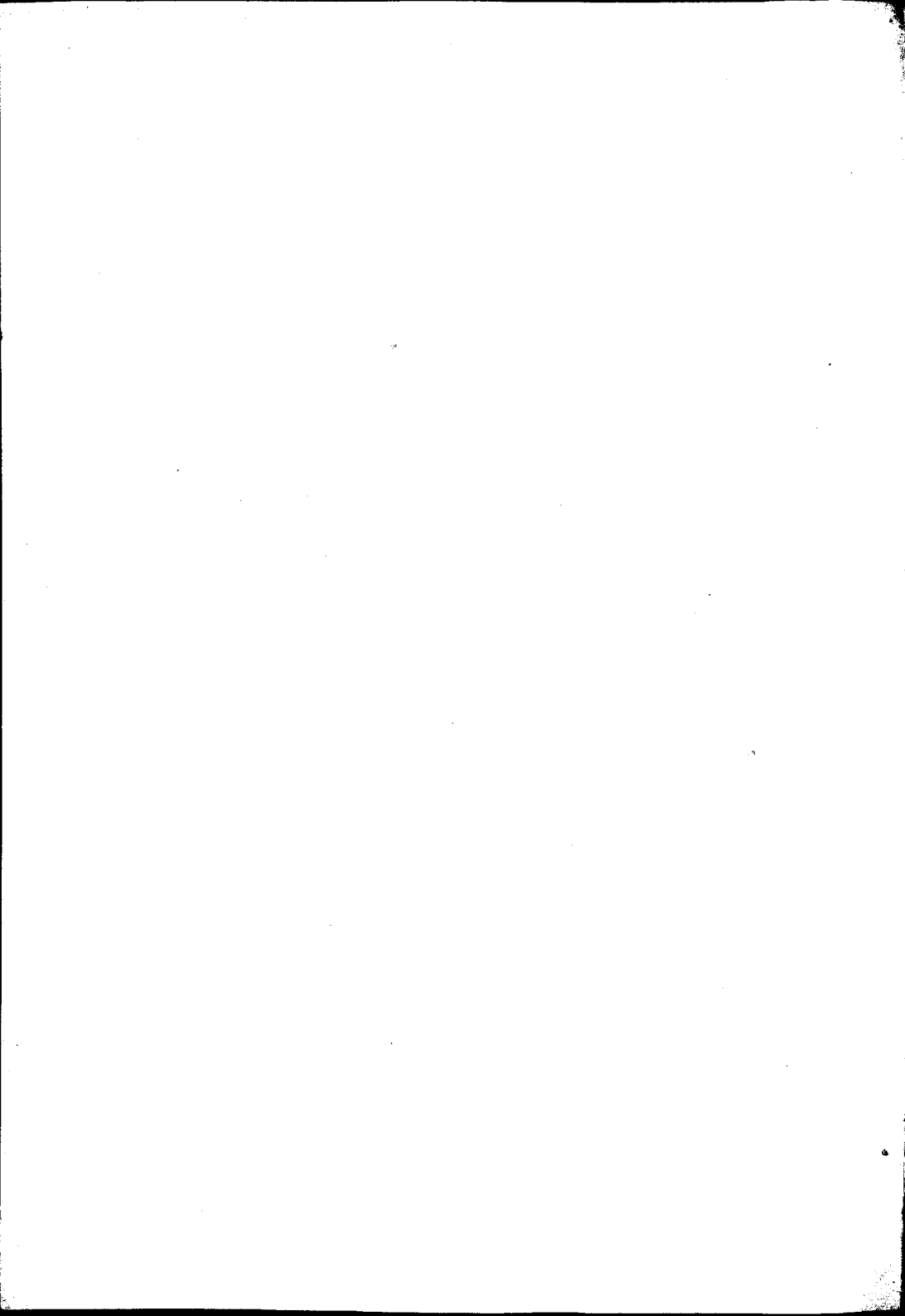
Reggente Capo del laboratorio bacteriologico
della Direzione di Sanità



ROMA

TIPOGRAFIA DELLE MANTELLATE

1892



MINISTERO DELL'INTERNO

LABORATORI SCIENTIFICI DELLA DIREZIONE DI SANITÀ

DELLA

CONSERVAZIONE DEI VIRUS

IN GLICERINA

NOTA

DEL

Dott. ACHILLE SCLAVO

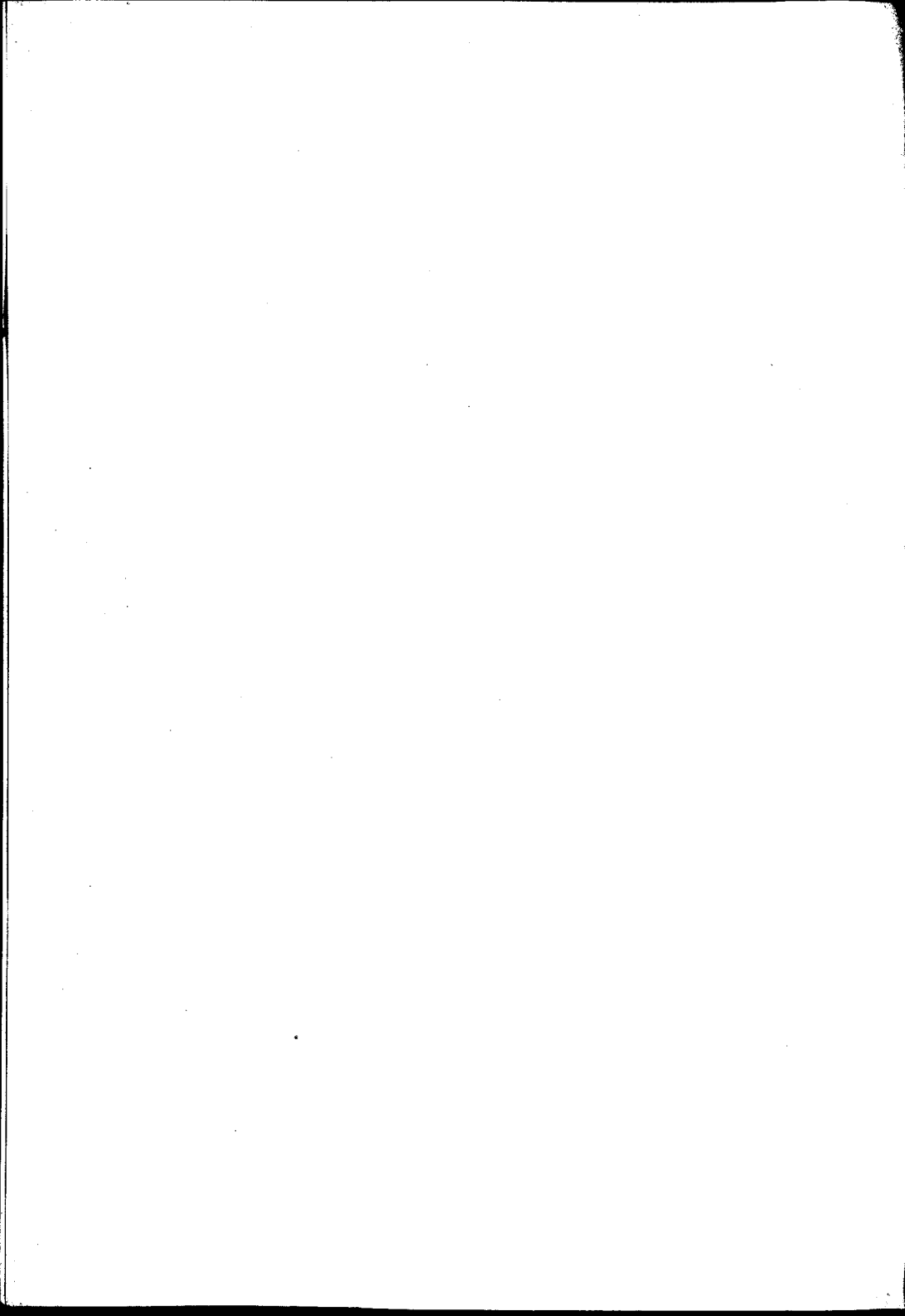
Reggente Capo del laboratorio batteriologico
della Direzione di Sanità



ROMA

TIPOGRAFIA DELLE MANTELLATE

1892



DELLA
CONSERVAZIONE DEI VIRUS IN GLICERINA

NOTA

del

Dott. ACHILLE SCLAVO

Reggente Capo del Laboratorio Bacteriologico della Direzione di Sanità

È noto che la glicerina non esercita azione nociva sopra alcuni virus.

Utilizzando questa proprietà, che spetta pure al virus del vaccino, oggi in quasi tutti gli Istituti vaccinogeni si aggiunge la glicerina alla polpa vaccinica, la quale così conserva assai bene la sua virulenza per mesi ed anche per anni.

A testimonianza della lunga vitalità del vaccino in presenza di glicerina, mi limito a riportare da una memoria di Dechamps il seguente fatto (1).

Il dott. Krieger istituì nel 1876 delle prove di vaccinazione animale.

Finite le esperienze dimenticò una boccetta di linfa vaccinica in un armadio. Ritrovatala undici anni dopo praticò con tale linfa delle inoculazioni ad un vitello e ne ebbe pustole normali, che servirono per vaccinazioni successive.

(1) « Note sur le vaccin de genisse », par M. E. DESCHAMPS *Recue d'hygiène*, n. 8, pag. 651.

Il virus rabbico pure, come ha dimostrato E. Roux, si mantiene nella glicerina inalterato per lungo tempo (2). Bordoni Uffreduzzi ha trovato lo stesso virus rabbico attivo dopo più di 6 mesi di conservazione.

Si sa ancora che molti batteri vivono abbastanza bene nella glicerina, tanto è che troviamo molti di essi ancora nella polpa vaccinica glicerinata conservata per parecchio tempo. Il numero però di tali microrganismi va in essa poco a poco diminuendo ed in capo ad alcuni mesi di conservazione si ha una polpa che pur conservando tutta la sua attività specifica, non contiene che uno scarssimo numero di batteri viventi.

Movendo da questi fatti ho voluto estendere le prove di conservazione con la glicerina ad alcuni batteri patogeni, quali si trovano nei tessuti stessi degli animali morti d'infezione. Mi sono servito nelle diverse esperienze di ottima glicerina perfettamente neutra e non sterilizzata.

In quantità piuttosto abbondante di glicerina (80-100 cmc.), perchè più prontamente si compiesse il processo di disidratazione, immergevo le milze asportate dagli animali appena morti di infezione, e le teneva in luogo scuro alla temperatura della camera.

Per saggiare la virulenza di tali milze, che dopo alcuni giorni di permanenza in glicerina si trasformavano in duri corpi lamellari, ne tagliuzzava un pezzetto in un po' di acqua sterilizzata dentro un vetrino da orologio, passato alla fiamma e lasciato raffreddare sotto una campanella di vetro. Allontanavo così in gran parte la glicerina con il lavaggio ed inoculavo in seguito il tessuto sotto cute ad un animale sensibile.

I batteri, sui quali ho sperimentato, furono il diplococco di Fraenkel, il bacillo del colera dei polli, e il bacillo del carbonchio (forma vegetativa).

*

A) DIPLOCOCO DI FRAENKEL. — Gli esperimenti furono condotti nel seguente modo: ottenuta la morte di un coniglio coll'inoculazione di sputo pneumonico, ho esaltata la virulenza del diplococco

(2) « Note sur un moyen de conserver les moelles rabiques avec leur virulence », par F. M. Roux. *Annales de l'Institut Pasteur*, tome I, pag. 87.

mediante successivi passaggi del sangue in altri conigli, finché alla sezione dell'ultimo coniglio morto dopo 52 ore dall'inoculazione ebbi il seguente reperto: scarsi fenomeni di reazione sottocutaneamente al luogo d'innesto, intestino dilatato e pieno di liquido diarroico, milza grossa, dura e nerastra, moltissimi diplococchi capsulati nel sangue. Di questo coniglio presi la milza e la posi in glicerina, facendo poi di tempo in tempo innesti in altri conigli.

Il risultato costante fu che dopo 3-4 giorni dall'inoculazione seguì sempre la morte degli animali di esperimento ed alla autopsia si riscontrarono gli identici dati sovraenumerati dell'infezione specifica.

Nel luogo di innesto si ebbe sempre un leggiero processo reattivo e nel sangue furono in tutti i casi trovati i diplococchi in numero rilevante. L'ultimo coniglio della serie inoculato con esito letale data dal giorno 3 di agosto, e la milza, che servi per l'innesto, fu messa in glicerina il 27 di maggio, per cui *il diplococco di Fraenkel conservò la sua virulenza nella glicerina per un periodo di tempo non minore di 67 giorni.*

Identico risultato diedero le prove ripetute con pezzetti di altre due milze da diplococco conservato in glicerina rispettivamente da 44 a 58 giorni.

B) BACILLO DEL COLERA DEI POLLI. — Iniziai le mie esperienze con questo bacillo servendomi per l'inoculazione degli animali di una cultura di colera dei polli molto attiva, proveniente dal laboratorio del prof. Rivolta.

Il giorno 21 aprile asportai, per la conservazione in glicerina, la milza da un coniglio morto di infezione acutissima 19 ore dall'innesto.

Questa milza mantenne la virulenza per lungo tempo. Con un pezzetto di essa infatti *potè ancora uccidere un coniglio al 74° giorno di permanenza del viscere nella glicerina.*

La morte di questo coniglio, come quella di altri tre prima inoculati, avvenne dopo circa 24 ore dall'innesto. Alla sezione si trovarono scarsi fenomeni di reazione attorno al punto dove venne introdotto il materiale infettante e nel sangue furono sempre molto numerosi i bacilli del colera dei polli.

Il giorno 21 agosto ho inoculato ad un coniglio l'ultima porzione di milza rimasta in glicerina dal giorno 21 aprile, ma l'animale non ne risentì disturbo di sorta.

Dopo quattro mesi dunque di permanenza in glicerina il bacillo del colera dei polli non riuscì più a determinare l'infezione nel coniglio.

C) BACILLO DEL CARBONCHIO EMATICO. — Introdussi un filo carico di spore di carbonchio sotto la cute di una cavia, la quale morì 34 ore dopo.

Venne subito praticata l'autopsia e la milza fu trasportata in glicerina. Tre giorni dopo infettai con un pezzetto di questo viscere una seconda cavia, la cui morte avvenne solamente dopo 64 ore. Alla sezione incontrai abbondante edema sottocutaneo, milza mediocrementemente ingrandita nerastra e flaccida, discreto numero di batteri nel sangue.

Una terza cavia fu inoculata con altro pezzetto di milza in glicerina da 7 giorni.

L'animale morì dopo 74 ore presentando all'autopsia un più vasto edema sottocutaneo, i bacilli nel sangue erano disposti in filamenti discretamente lunghi.

Altra cavia fu inoculata con lo stesso materiale tre giorni più tardi, ma essa si mantenne in vita.

Ripetute le prove con altre due milze carbonchiose in glicerina, trovai che la loro virulenza per la cavia cessò per l'una alla settima, e per l'altra alla nona giornata.

Le cavie inoculate prima di questo tempo morirono presentando un periodo d'incubazione assai più lungo di quello che si ebbe infettando altre cavie, uguali presso a poco in peso, coi fili carichi di spore di carbonchio.

Se, oltrechè di questo maggiore periodo di incubazione, si tiene eziandio conto degli imponenti edemi sottocutanei, che si riscontrarono sempre in corrispondenza del luogo di innesto, e delle tendenze dei batteri a formare filamenti piuttosto lunghi nel sangue, si è autorizzati a ritenere che il bacillo del carbonchio abbia subito un certo grado di attenuazione durante la sua permanenza nella glicerina.

Mi riservo però di studiare meglio in seguito tale questione.

*

Sebbene nelle mie esperienze io mi sia limitato a poche specie batteriche, ho creduto bene di pubblicare i risultati fino ad ora ottenuti, perchè da essi parmi possa già trarsi qualche utile per la pratica.

Che se ulteriori ricerche dimostreranno che la glicerina ha la proprietà di conservare la virulenza di altri microrganismi, il batteriologo avrà in essa una sostanza, la quale, oltrechè servire per mantenere attivi alcuni germi che come il diplococco di Fraenkel rapidamente si attenuano negli ordinari mezzi di coltura, gli sarà specialmente preziosa per trasportare con grande comodità in laboratorio un materiale virulento da località dove manchi ogni mezzo per uno studio accurato.

Roma, 22 settembre 1892.

