



MINISTERO DELL'INTERNO

Laboratori scientifici della Direzione di Sanità

SULLA

STERILIZZAZIONE DI MISCELE LIQUIDE

incompatibili ad elevata temperatura

DEL

Dott. B. GOSIO

Perito medico igienista

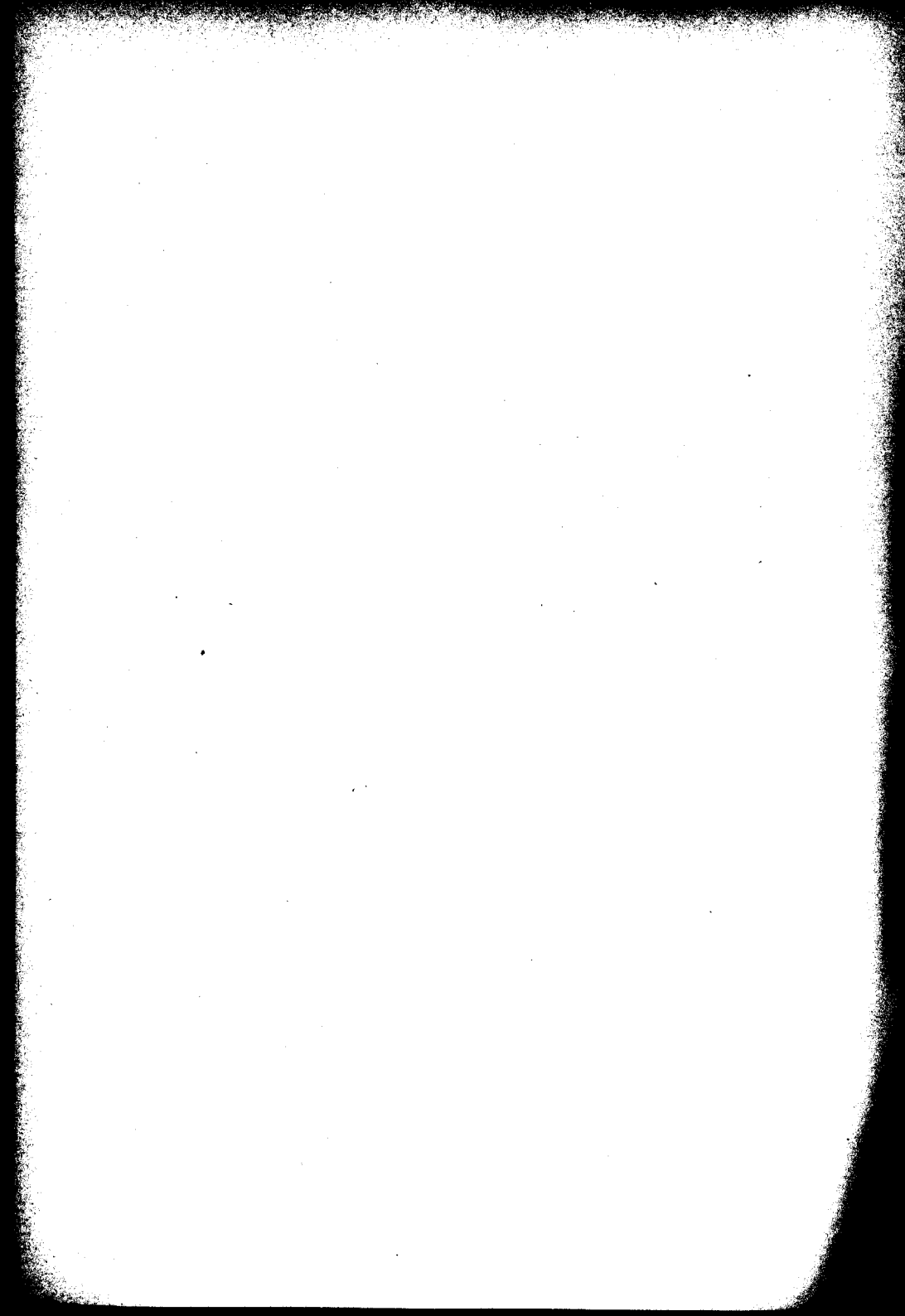


ROMA

TIPOGRAFIA DELLE MANTELLATE

1895

*Man. G. 50.14*



MINISTERO DELL' INTERNO

Laboratori scientifici della Direzione di Sanità

---

SULLA  
STERILIZZAZIONE DI MISCELE LIQUIDE

incompatibili ad elevata temperatura

PEL

Dott. B. GOSIO

Perito medico igienista

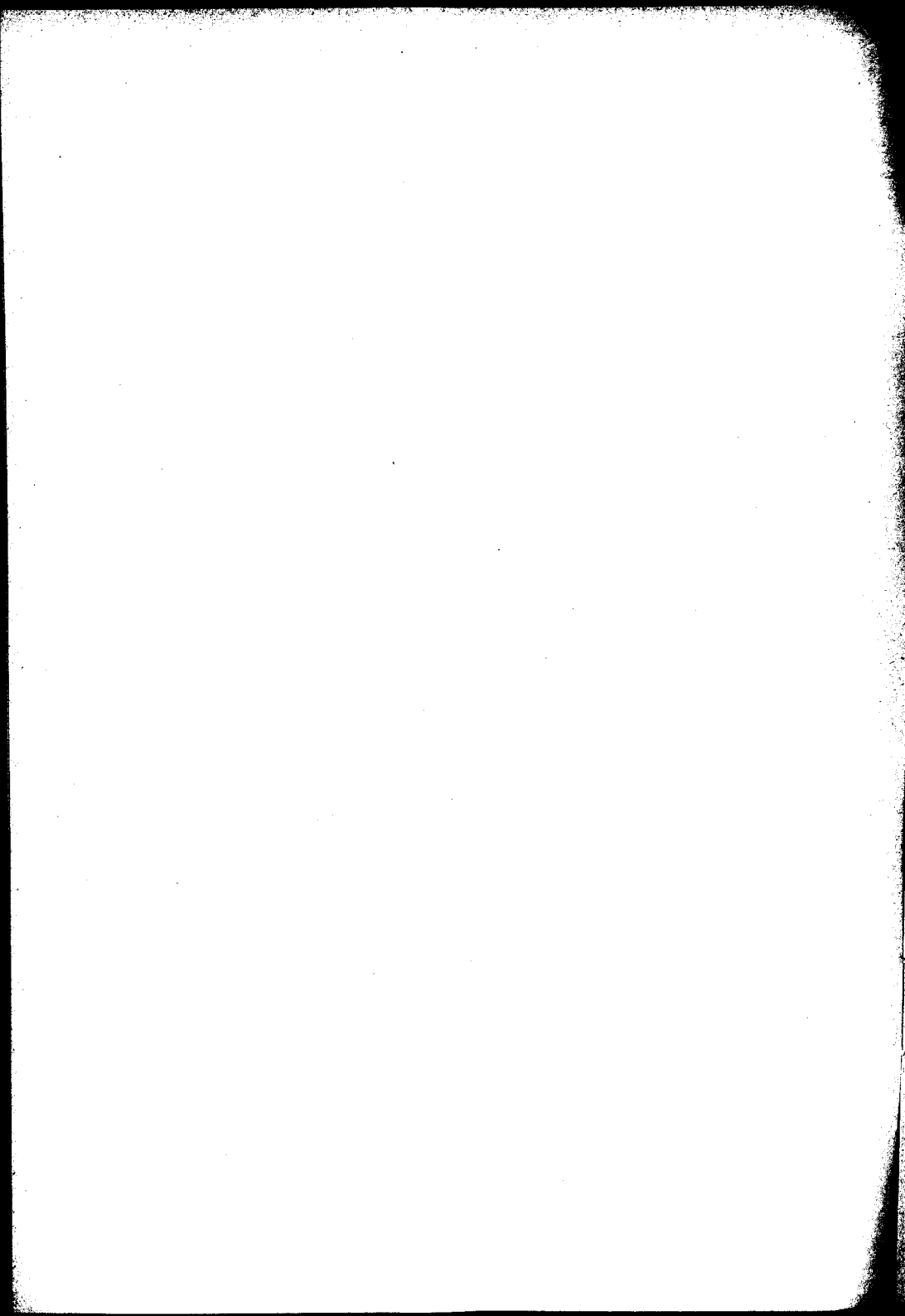


ROMA

TIPOGRAFIA DELLE MANTELLATE

1895

*M. B. 50/17*



## SULLA STERILIZZAZIONE DI MISCELE LIQUIDE

INCOMPATIBILI AD ELEVATA TEMPERATURA

pel dott. B. GOSIO

PERITO MEDICO IGIENISTA

---

Fra le ordinarie pratiche di laboratorio occorre talora quella di dover sterilizzare miscugli liquidi, i cui componenti, portati a temperatura elevata, diventano fra loro incompatibili. Così, p. es., è noto che gli alcali scompongono a caldo diverse specie di zuccheri; allora le soluzioni fortemente s'imbruniscono, e ciò disturba la percezione di talune particolarità culturali che interessa rilevare, oltre di che si introducono nel futuro terreno di coltura sostanze nuove, che possono danneggiare le ricerche consecutive. Vogliansi, per fare un altro esempio, studiare i fenomeni di saccarificazione determinati dalla biologia d'un microorganismo coltivabile in ambienti acidi; evidentemente è di somma importanza evitare che l'acido agisca sulla sostanza saccarificabile durante la sterilizzazione, ciò che si potrebbe risolvere in un processo saccarificante indipendente dal germe oggetto del nostro studio.

Ma prescindendo da questi casi speciali, è indubitato che pel batteriologo è spesso importante evitare nelle sterilizzazioni l'azione reciproca delle sostanze destinate a comporre una miscela culturale.

\*.\*

Studiando il comportamento del vibrione colerico su diverse specie di zuccheri (1) ho avuto occasione di verificare le imperfezioni e i disagi che presentano a tale proposito i metodi finora conosciuti. Si possono sterilizzare i liquidi in recipienti divisi e poi, dopo raffreddamento, si possono radunare in un solo col mezzo di pipette Chamberland. Ma molto difficile riesce siffatto travaso senza introduzione di germi estranei. Si può, come consiglia Kuprianow (2), disporre per un opportuno sifonaggio dei liquidi, munendo i palloni di tappi di gomma a due vie con relativi tubi di vetro, uno per insufflare aria, l'altro per dar esito al liquido.

Ma quando si sterilizzano palloni chiusi a tappi di gomma con nessun altro sfogo pel vapore acqueo che un tubicino di vetro ingombrato ancora dall'indivisibile batuffolo d'ovatta, si va molto facilmente incontro ad uno scoppio. Inoltre riesce difficoltoso l'animare sifoni insufflando aria attraverso cotone, il quale, per di più, è ben di frequente bagnato per condensazione di vapore. Io ho ricorso per qualche tempo al metodo di Kuprianow, ma ho dovuto convincermi che è fastidioso, poco sicuro e anche poco favorevole al consecutivo sviluppo delle culture, in ragione dello scarso ricambio d'aria, che si effettua in recipienti chiusi alla maniera da Kuprianow consigliata.

Sicchè fra i processi in oggi conosciuti il migliore per raggiungere l'intento sarebbe quello di fare la miscela a freddo e poi filtrarla attraverso candele di porcellana. Ma non sempre si possono avere gli apparecchi necessari, e di più la garanzia di ottenere, con siffatta sterilizzazione meccanica, un liquido perfettamente amicrobico, non è da ritenersi sempre per assoluta.

\*.\*

Già nel sopracitato lavoro sul vibrione colerico, ma poi soprattutto in altri recenti, che saranno quanto prima pubblicati, e nei quali si esige la formazione di terreni culturali liquidi complessi e intolleranti (quali miscugli) dell'alta temperatura, mi sono servito

(1) *Archiv. für Hyg.* Bd. XXII.

(2) *Archiv. für Hyg.* Bd. XIX.

con grande vantaggio di una tecnica speciale, che credo utile illustrare nei suoi particolari.

Essa si fonda sul principio degli autosifoni, che, atteso il congegno speciale d'apparecchi, vengono a stabilirsi in forza della elevata temperatura della sterilizzazione a vapore.

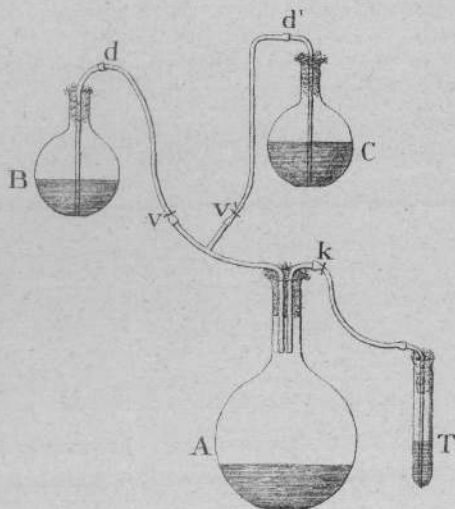
La figura unita spiegherà chiaramente la disposizione degli apparecchi e il loro modo di funzionare.

*A, B, C* sono altrettanti palloni che contengono liquidi da sterilizzarsi separatamente: *A*, come il maggiore di tutti, è destinato a contenere la miscela dopo la sterilizzazione. Ciaschedun pallone è munito di tappo d'ovatta, in cui passa un tubo di vetro piegato all'esterno ad angolo retto. In *B* ed in *C* i tubi di vetro raggiungono il fondo; in *A* debordano di pochi centimetri dal tappo d'ovatta.

Le estremità *d* e *d'* dei tubi *B* e *C* sono collegate al tubo del pallone *A* con tubi di gomma; e più propriamente la tubulatura si stacca unica da *A* per suddividersi, coll'intermezzo di un tubo a *T* in due vie, che vanno rispettivamente a *B* ed a *C*.

Quando tutto è in pronto, si intercettano le comunicazioni di *B* e di *C* con *A* a mezzo di due pinze a vite *V, V'*, che si applicano sulle gomme in vicinanza del loro innesto sul tubo a *T*. È necessario che la distanza fra i punti *d* e *d'* e quelli in cui si applicano le corrispondenti pinze a pressione (*V, V'*) sia rispettivamente maggiore dei tratti verticali dei tubi corrispondenti di *B* e di *C*.

Ciò fatto, si procede alla sterilizzazione degli apparecchi così collegati e posti nello stesso autoclave o pentola a vapore corrente. Lungo la sterilizzazione succede che, pel forte sviluppo di vapore acqueo e per la elevata temperatura a cui è portato tutto il sistema, l'aria vien cacciata dai recipienti e dai tubi che li collegano;



sicchè, quando il riscaldamento cessa, quei tubi che, chiusi da una parte, pescano per la loro estremità pervia in un liquido, trovandosi vuoti d'aria, si riempiono e restano pieni del liquido stesso fino al punto di loro chiusura. In altre parole, i tubi di *B* e di *C* fino al punto dove sono applicati i *Klemmer V* e *V'*, si presentano, dopo la sterilizzazione, ripieni di liquido.

Si attende che il raffreddamento sia completo e poi, mantenendo sollevati un dopo l'altro i palloni *B* e *C*, si aprono successivamente le pinze *V* e *V'*, con che i liquidi corrispondenti fluiscono nel pallone *A*, dove, agitando, si compone la miscela voluta.

In seguito, si può liberare il tappo di *A* del suo tubo di vetro, ciò che si effettua senza che resti alcuna comunicazione fra l'interno di *A* e l'aria esterna, essendochè gli strati di ovatta, favoriti da dolce compressione manuale, facilmente si addossano a ricomporre lo spazio occupato dal piccolo tubo di vetro.

Naturalmente se, a differenza del caso qui contemplato, i liquidi di coltura fossero più di tre, si possono aggiungere quanti recipienti si vogliono, armandoli tutti nella stessa guisa di *B* e di *C*, ed intercalandone la comunicazione col recipiente maggiore a mezzo di tubi a *T*.

Se poi non si avessero a disposizione grandi apparecchi di sterilizzazione a vapore, come si richiede per contenere un gran numero di palloni, questi si possono anche sterilizzare disgiunti. In tal caso si chiudono con bastoncino di vetro i tratti di tubi rimasti liberi dopo l'applicazione dei *Klemmer*, e, raffreddati i liquidi, si procede a congiungere, colle dovute cautele asettiche, un dopo l'altro i palloni *B*, *C*, ecc. con il tubo afferente di *A*; il travaso segue nella stessa maniera sopra ricordata.

..

Per ciò che si riferisce ora alla coltura del germe, io applico con buon risultato il medesimo principio dell'autosifone.

Una provetta *T* (vedi figura) è armata nella stessa guisa che i palloni *B* e *C*; comunica però con *A* per mezzo di un tubetto separato. Essa contiene un liquido nutritivo (ad es. brodo peptonizzato) e si sterilizza unitamente a tutto il sistema. Quando il liquido di coltura è costituito, si inocula in *T* il germe da studiarci, e se

ne attende, lo sviluppo favorendolo, se occorre, colla temperatura del termostato. Infine, mantenendo elevata la provetta, si apre il *hemmer k*, con che la cultura penetra in *A*, al coperto d'ogni inquinazione esterna.

Anche questo metodo speciale di cultura mi pare in molti casi raccomandabile. Lo studio di alcuni processi fermentativi richiede grandi recipienti con masse cospicue di liquidi: chi per inocularvi i germi ha seguito la tecnica ordinaria, ha dovuto incontrare parecchie difficoltà: il maneggio di grossi tappi d'ovatta che si applicano agli ampi colli dei grossi palloni, non dà garanzia contro la introduzione dei germi estranei. Invece, col metodo testè descritto, questi pericoli sono evitati.

