

D613

Misland Bonu
2022
med. 1927

CURS

DE

MEDECINA EXPERIMENTALA

BACTERIOLOGIE



BIBLIOTECA
53.329

01 JUN 2004

EDITAT DE:

SP. CONSTANTINESCU

GLORIE IONESCU

IOAN I. DUMITRESCU

EDITIA II-A



Problema generațiunii spontane

Soluțiunea acestei probleme este astăzi fundamentală în studiul patologiei. Credința generală până mai acum cătăva vreme era că această doctrină este natacabilă și că prezintă o importanță capitală rezolvind mai toate chestiunile științifice. Chestiunea originii germenilor cari dau fermentațiile și determină boalele este astăzi la ordinea zilei. Explicația mecanismului fermentațiilor merge paralel cu studiul infecțiilor. Pentru că această noțiune abstractă, generație spontană, să fie mai bine înțeleasă să luăm cătăva exemple.

Dacă lăsăm mustul de struguri cătăva vreme în contact cu aerul, vom observa o serie de fenomene, cari se traduc întâi prin emisia de gaze, iar glucoza din must dispare fiind înlocuită cu alcool. În tot timpul acestei operațiuni, care nu

este alt-ceva decât o fermentație, se formează în fundul vasului cu must, un depozit amorf, care examinat la microscop se vede că este format din celule cu caracter vegetal, de formă ovoidă, sunt celulele fermentului saccharomyces cerevisiae.

De unde provine este, de unde provine? Au fost ele introduse din afară sau nu ar fi oare decât produsul organizării substanței fermentescibile?

Un lapte nefiert lăsat în contact cu aerul câtva timp se acroște, se formează un coagul și lactoza dispare fiind înlocuită de acidul lactic care dă gustul caracteristic. Examinând la microscop vom vedea că în masa coagulată au apărut elemente mici, izolate sau formând oiruri și reprezentând celulele elementului ferment.

De unde provine?

Dacă lăsam obucată de carne la aer câtăva vreme, ea va căpăta un miros caracteristic, va putrezi, petrecându-se o topire a substanțelor albuminoide. Examinând la microscop o picătură din acest exudat al cărnei, vom constata prezența unor ființe

cu aspect filamentos, flexuos, inzestrate cu o mobilitate extraordinară: avem a face cu vibriionul butyric. -

Obucată de pâine lăsată la aer, capătă muci gain. Examinând la microscop vom vedea numeroase filamente miceliene: mucor mucedo.

Felii de fructe lăstate la aer capătă muci gain, la microscop observăm miceliu la care dispozitia sporilor este acia a unei pensule. Avem a face cu Penicillium album. Alte ori găsim însă pe aspergillus niger. -

Lăsând în aer liber un flacon cu bulion, destupat, vom observa că bulionul se turbură și dacă din acest bulion turburat examinăm la microscop, vom descoperi niște bacili foarte subțiri. -

Examinând sângele unei oi atinsă spontan de antrax, vom observa la microscop niște bastonase, între globulele roșii. Este microorganismul care produce această boală bacillus anthracis. -

Aci se pune întrebarea fundamentală asupra originii microbilor cari apar în mod spontan, în aparență, într-un mediu vegetativ. Această chestiune a rămas nedeslegată

— 6 —
până la Louis Pasteur, care a rezolvit-o grație
metodei experimentale.

Istoricul problemei.

În antichitate era răspândită doctrina că
vieții, mustele și alte insecte, se pot naște în
mod spontan, prin organizarea mediului,
din cadavrele animalelor sau din substanțe
intrate în putrefacție. Aristoteles era convins
că furnicile se nasc în mod spontan din nămo-
zul bălților. Și Sucretius în: « De zermi na-
turae » pune la punct doctrina nasterii spo-
ntane a viermilor, mustelor și altor insecte.

Chestiunea originii mușegăului nici nu
se punea pe vremea aceea. Doctrina generației
spontane a persistat ca un fel de dogmă în
tot evul mediu fără ca cineva să fi îndră-
nit să opună la îndoielă. —

În vremea renasterii dezvoltându-se
spiritul de liberă critică, un observator
italian Francesco Redi, a rezolvit dintr-o
dată chestiunea generației spontane printr-o
experiență excesiv de simplă. Pe vremea aceea
se zicea că mustele nasc în mod spontan din
carne putredă. Redi a luat o bucată de
carne, a pus-o într-un borcan acoperit cu

o bucată de tifon. Muștele atrase de mirosul caracteristic al cărnei, veneau, însă fără să poată pătrunde la ea; așa că și depuneau ouăle lor pe tifon și muștele noi se nașteau din aceste ouă, iar nu din carnea în putrefacție la care nici nu ajunseseră. Metoda experimentală corespunde foarte bine stării critice a spiritelor din acea vreme. Cartea lui Redi despre "Originea insectelor" a avut o editie, un formidabil succes de librărie pentru acea vreme. -

Un alt italian, aproape contemporan cu Redi, Walesmieri, a arătat cum se nasc viermii cere găsesc în fructe. Larvele lor nu apar dacă izolim fructele de mediul exterior.

Autozitatea bisericăască din vremea aceea, n-a putut ierta lui Redi această îndrăzneală, socotindu-l un eretic, un om care contrazicea Biblia, de oarece în cartea "Judecătorilor" există un pasaj, unde se spune că muștele nasc din cadavrele leilor, și l-a condamnat. -

Asemenea experiențe fură reînnoite de alți savanți, așa că pe la sfârșitul Sec. XVII-lea generația spontană era mai puțin admisă,

pătunzând incetul cu incetul aforismul "Omne vivum e vivo."

Pe la 1678, olandezul Leeuwenhoeck construie primul microscop și cu ajutorul lui puse în evidență în lichide, lumea ființelor microscopice necunoscută până atunci. Teoria generațiunii spontane se restabilește în mod automat de data aceasta, pentru microorganisme, neputându-se explica în alt chip proveniența lor în lichide. Se făcea o infuzie de fân și în ea, destul de curând un timp, apărea o turbureală. Examinând-o la microscop, se vedeau fel de fel de vietuțoare, care nu găseau altă explicație a prezenței lor, decât printr-o organizare a mediului. Infuzoriile - căci așa se numeau acele ființe - se nășteau - așa se credea - prin generație spontană și apăreau la microscop, sub o mărire de 400 de ori. -

Se învârtă atunci o multime de experimenterători cari căutau să verifice această aparițiune a ființelor microscopice. Cei mai celebri fură: englezul Needham și italianul Spallanzani. -

Needham demonstrează realitatea generațiunii spontane, prin metoda experimentată.

El pregătea o infuzie și după fierbere închidea hermetic vasul și observă că totuși infuzia se turbură, apărând la microscop acele infuzori azi le spunem bacterii - și admitea că s-au născut prin generație spontană, fiindcă - zicea Needham - la 100° am distins prin fierbere orice vietuitoare și deci dacă există din nou, apoi ele s'au născut prin organizarea mediului.

La aceeași epocă, naturalistul francez Buffon emitea doctrina lui relativă la moleculele organice. El admitea că există în natură elemente nediferențiate - molecule organice nemuritoare - cum le spunea Buffon, și care prin agregarea lor constituiesc multimea de ființe vietuitoare. Doctrina aceasta n'avea nici o bază științifică, de aceea nici n'a cântărit foarte mult în balanța științifică. În experiențele lui Needham se părea totuși că există puțină logică. -

Pe la 1765 Spallanzani relua experiențele lui Needham, însă cu o tehnică mai riguroasă. El punea infuzia într'un balon și după fierbere prelungită de $\frac{3}{4}$ de oră închidea gâtul balonului la flacăra, și la răcire infuzia rămânea îndelung neturburată. Concluzia

lui Spallanzani era că Ree dham nu fierbea
indeajuns infuzia, căci e destul să fierbi pre-
lungit, zicea Spallanzani, ca generația spo-
ntană să nu aibă loc. Needham obiectă, că
în felul acesta se distrugea puterea genetică
a mediului, se schimba constituția aerului, etc.

Peci chestiunea generației spontane era
incă nerezolvată la începutul secolului al XIX-lea

Tot cam pe atunci marele chimist francez
Gay-Lussac făcu o serie de experimente ce păreau
a da dreptate partizanilor generației spo-
ntane. Pe atunci se intra tusee în Franța
industria Conserveelor alimentare. Se observase
că aceste conserve se păstrează indefinit, dar
îndată ce veneau în contact cu aerul se alte-
rau și în ele apăreau o multime de microo-
rganisme. Gay-Lussac atribuia nedesvoltarea
germenilor în cutile închise, lipsei de oxigen.

Schwann, fierbea infuzia într-un recipient
și lăsa aerul să intre după ce-l trecuse
printr-un manson metalic încălzit la rosu;
infuzia nu se livebua. Și a obiectat că
în felul acesta, distrugea puterea genetică
a aerului.

Schweder și Dutsch astupau flacăra cu

infuzia printr-un dop de vată. În acest fel vaporii erau, ascul întră, însă germanii rămăneau pe dop; i se obiectă însă distrugerea puterii generice a însăși mediului. —

Ystologistul Robin spără cu energie doctrina generației spontane, iar elevul său Orimus făcu experiența următoare: introducea un sac membranos bine închis, în peritoneul unor animale. Lichidele organismului animal transudau în sac și examinând conținutul acestuia, găsi celule vii, leucocite, pe care el le considera ca apărute în mod spontan. —

Credința în generația spontană avea o influență foarte mare asupra concepțiunii patologice: se credea că boalele sunt niste produse spontane ale organismului nostru și Claude Bernard credea în generația spontană a boalelor infectioase din organismul nostru.

Un observator filozof englez, Owen Boigt, într-un moment de inspirațiune profetică, a spus că cine va rezolvi problema fermentațiilor va descoperi de sigur și cauzele boalelor. —

Ast-fel în genere, în ceia ce privește celulele organismelor superioare nu se mai credea în origina generațiunii spontane, dar în

ceace privescete celulele libere: microorganismele, protozoarele, origina spontană era admisă de cea mai mulți savanți. -

Acum intervine Pasteur, care prin câteva experiențe, de o simplitate, am putea spune geometrică, cătoroamni li se putea obiecta nimic, a transat definitiv chestiunea. -

La 1860 când și-a început experiențele, el cunoștea diferitele experiențe epocale. Când pe rând Pasteur descoperă agenții fermentațiilor lactice, alcoolice, butirice, acetice. El arată că nici o fermentațiune nu se poate produce în lipsa unui microorganism specific, sau în lipsa produselor sale. -

Pentruca lactoza să se transforme în acid lactic e necesară prezența fermentului lactic; pentru ca zahărul să se transforme în alcool e necesară prezența levezii și tot ast. fel, pentru toate fermentațiile, ori cari ar fi ele. În definitiv el a ajuns la concluziunea că niciodată materia organică nu se poate altera fără intervenirea vreunui germen din afară. -

Partizanii generației spontane susțineau că un lichid organic produce germeni vii

spontane: Pasteur susținea că totdeauna
germenii vii sunt veniți din afară. -

Pouchet pentru a-l contrazice spunea că
pentru aceasta ar trebui ca aerul să aibă
densitatea ferului ca să conțină o cantitate
stat de mare de germeni. Pasteur zicea că
intotdeauna există în aer germeni vii, el
cântă să explice aceasta prin următoarea
experiență:

Luă un tub de sticlă astupat la un
capăt printr-un dop de vată înmuiat în eter,
iar la celălalt capăt era pus în comunicație
printr-un tub de cauciuc cu un aparat aspi-
rator.

Făcând să funcționeze aparatul aspi-
rator trecea printr-un curent de aer, care
se desbrăca de elementele străine, lăsându-le
pe dop. El mai arată că aceste elemente
constă în fire de păr, lână, praaf și chiar
spori de diferite infuzorii, ciuperci, etc, rămân
pe dop. Mai trebuie să demonstreze că aceste
microorganisme, sporii, erau vii, ceea ce și făcu
prin următoarea experiență: luă din acești
spori de pe dopul de vată și îi puse în bulion
și urmărind la microscop, pe o lamă, văzu

stozii germinând și dând, după puțin timp, un miceliu ramificat. —

Rămăneea de demonstrat că aceste ființe vâ sunt agentii fermentațiilor sau turburărilor ce le observăm în mediile nutritive. Pasteur luă o serie de baloane de sticlă cu un mediu nutritiv ce-l fierbea mult timp și în modul acesta aerul era dat afară; în timpul fierberii gâtul balonului era închis; după ce se lăsau să se răcească aceste baloane, erau transportate în diferite regiuni: în centrul orașelor, pe culmile muntilor și în largul mării, unde se rupeau gâturile și de unde până aci lichidul era limpede, de îndată se turbură și la microscop se observau microorganisme, ce erau introduse odată cu aerul la ruperea gâturilor flaxoanelor. Totodată el arătă că p'ecând în centrul orașului sunt foarte mulți germeni. vâ și foarte puțini pe culmile muntilor, în aerul din largul mării nu se găsesc aproape de loc. —

Adversarii lui susțineau că materia am se putea organiza din cauza vidului, în baloanele închise. Pasteur luă atunci un balon cu gâtul foarte lung, ce se lăsă deschis și care

balon, la jumătatea gâtului său era încălzit cu o lampă de spirit; aerul circula în balon până la suprafața lichidului fără ca acesta să se turbure. Însă adversarii îi imputau că aerul încălzit face ca lichidul să-și piardă puterea genetică. -

De astă dată Pasteur a răspuns în mod decisiv, schimbând forma gâtului balonului. - El luă bulion într-un balon cu gâtul în formă de S, îl fierbe și astfel aerul e dat afară din balon și din gâtul lui, și în același timp se sterilizează întreg balonul; apleacă puțin balonul așa că în îndoitura inferioară a gâtului să se găsească puțin lichid. Stingând flacăra și lăsând să intre aer, lichidul nu s-a turburat nici decum. Nu se putea zice că lichidul își pierduse puterea germinativă, deoarece era destul să întoarcă gâtul balonului pentru ca să intre lichidul din partea de jos a tubului, în balon, ca turbureata să aibă loc. Ce să fie creat? Aerul intrând în tub pe la extremitatea lui liberă, vine încărcat cu germeni vii, care sunt opriți în mica cantitate de lichid rămasă în îndoitura de jos a gâtului balonului; cu chipul acesta

acel ce trecea mai departe era steril și de-aceia nu se produceau turburări în lichidul din balon. —

Cățiva autori încearcă să aducă câteva obiective importante. Ast. fel ilustrul Glem-holz arată că laptele fierd și închis se întâmplă totuși să fermenteze. —

Pasteur arată că mediile alcaline pentru a se curăți de microorganisme trebuie încălzite mai mult decât cele acide. —

Un autor englez Bastian aducea și aici o obiectivă pe care o arată printr-o experiență. Luă într-un balon o infuzie de făină și o fierbe. În acest mediu, în aparență steril, introducea potasă caustică (KOH) de asemenea sterilă; alcaliniza mediul și infuzia se turbură. Pasteur care descoperise vibraionul butiric — un vibraion sponbat — s'a gândit la prezența unor spori și în special la Bacillus subtilis, al cărui spor este f. rezistent și care se iveau după introducerea potasei. —

În laboratorul lui Pasteur, în acest timp se descoperă decâtze Chamberland autoclamul. Pasteur repetă experiența la

120° și în acest chip se termină lupta seculară privitoare la generațiunea spontană. -

Rezultatele la care ajunsese Pasteur sunt următoarele:

1) Într-un lichid fermentescibil, lipsit de germeni, viața nu poate să apară spontan, adică prin organizarea a mediului însuși, ci numai prin introducerea din afară a germenilor vii. -

2) Un microorganism unicelular se poate totdeauna dintr-un alt microorganism, identic sau aproape identic, moșterind particularitățile părintelui „omnis celula e celula!”. -

3) Pentru a steriliza complet un lichid fermentescibil, simpla fierbere nu e suficientă. Aceste experiențe nu numai că termină lupta contra generațiunii spontane, dar revoluționează concepțiunea relativă la organizarea materiei răspândită pe suprafața globului. -

Substanțele albuminoase încearcă toate modificările pentru a ajunge la starea minerală, din care rezultă apoi din nou substanțe albuminoase. Acest ciclu constituie ceea ce numim „zotațiunea materiei!”. Această zotațiune nu e posibilă fără existența germenilor

vii. În urma acestor experiențe și concepțiunilor asupra originii boalelor fură revoluționate, o dată ce fu demonstrată inexistența generațiunii spontane.

Credința în spontanitatea boalelor fu înlocuită prin știința actuală, care demonstrează că boalele infectioase sunt datorite germeilor veniți din afară. Aceste experiențe au stabilit și noțiunea de specificitate a boalelor, după cum și fermentațiunile sunt datorite unor germeni specifici. —

Pasteur demonstrând inexistența generațiunii spontane, a făcut să reiasă că numai intervenirea unei ființe vii din mediul ambiant poate determina alterațiunile patologice ale materiei organice. Dar fiindcă generațiunea spontană nu există, nu trebuie să credem că nă există sau să nu poată exista. El a complectat pe Redi și pe Spallanzani. Logica ne obligă să admitem că la un moment dat generațiunea spontană a existat și că în niște împrejurări neprevăzute de noi poate exista. —

Fenomenele de transformism și hereditate admise azi, fac ca în mod științific să nu mai

putem admite existența sau intervenirea unei
puteri creatoare; totuși trebuie să admitem
că pe suprafața globului odată răcită, viața
fiind posibilă, substanța minerală s'a orga-
nizat spontan. -

Metoda experimentală a doborât o multitudine
de ipoteze construite foarte abil de mintea
omenească. -

Distrugerea lor a fost o adevărată tra-
gedie, după cum se exprimă naturalistul englez
Huxley. Ipoteza generațiunii spontane este
una din aceste tragedii. -

Sterilizarea.

Metodele de sterilizare sunt la baza
metodelor de laborator în medicina experi-
mentală. -

Prin sterilizare înțelegem: distrugerea
germenilor vii. Microbii sunt răspândiți în
toate mediile exterioare: pământ, aer, apă,
precum și pe toate obiectele care ne înconjoară.
Mediu steril este acel mediu în care lipsesc
cu desăvârșire germenii vii, îndepărtați prin
diferite metode de sterilizare. Pentru a studia

diferite specii microbiene va trebui să avem culturile lor lipsite de orice element străin; pentru aceasta e nevoie să sterilizăm mediile de cultură, vasele și instrumentele de care ne servim în cercetările noastre. —

Odată sterilizate aceste obiecte, trebuie păstrate în această stare. De aceea înainte de a steriliza, vom avea grijă să formăm de medii înconjurate așa astupând cu vată: flacoanele, tuburile, cristalizatoarele, — iar cutiile să le acoperim cu hârtie, spre a împiedica introducerea germenilor din afară.

Bumbacul e de două feluri: Bumbacul ordinar sau dui comert, și bumbacul hidrofili; cel din comert e impregnat cu materii grase, pe când cel hidrofili e spălat în diferite ape, cari au dizolvat materiile grase. —

Bumbacul întrebuintat de noi în laborator pentru astuparea eprubetelor, flacoanelor, etc, întrebuintat de noi în laborator trebuie să fie hidrofili pentru că absoarbe umezeala dui aer și sporii mucigăilor începând să se dezvolte vor putea să străbată grosimea dopului căzând în cultură și o contamineză. —

De aceea se întrebuintează bumbacul sau

— 2 —
vata ordinara. —

Mijloacele practice de sterilizare sunt:

I Agentii fizici.

II " Chimici.

III Metodele mecanice

Ca agenti fizici avem caldura si lumina. Agentii chimici sunt antisepticii cari sunt putini intrebuintati in lucrările experimentale. —

Ca mijloc mecanic avem filtratiunea in care se separa capusulii in suspensiune. Pentru fie-care specie bacteriana exista o limita inferioara si o limita superioara pana la care este posibila dezvoltarea ei). —

Care sunt temperaturile compatibile cu dezvoltarea germenilor vii? —

Natural variaza dupa specia considerata si dupa conditiile de adaptare. Bacteriile care se gasesc in mod normal in apa de mare se dezvoltă intre 0° in jos si 15° in sus, cu temperatura optima de 8° . Când e vorba de specii patogene optimul de temperatura, de crestere se afla in jurul temperaturii normale a corpului uman 33° - 38° . Limita superioara

și inferoară variază cu specia. Bacilul tuberculozei are limita superioară 41°, limita inferoară 30°. Dincolo de aceste limite dezvoltarea lui nu se face în abundență. -

Microbul pestei se dezvoltă la temperaturi joase 8°-10°, cu maximum 41°, iar optimum 37°. -

Sunt însă specii microbiene cese în multe, la temperaturi ridicate, așa zisele specii termofile, cari însă nu sunt patogene. Ele trăiesc în ape termale la 65°-75°. Faptul are importanță atât în cece privește fenomenul de adaptare a speciilor, cât și asupra discuțiilor cu privire la apariția primelor ființe vii la suprafața pământului. Primele ființe ar fi trebuit să trăiască în oceanul, și au putut trăi, tot așa cum trăiesc azi speciile termofile, înainte ca oceanurile primitive să-și scadă temperatura până la 50° (așa cum s'a afirmat de unii cercetători).

În mod general frigul nu ucide microbii, chiar frigul intens, majoritatea microbilor nefiind distruși la temperatura aerului lichid - 138° (diferenți coci). -

Bacilii se prezintă sub două forme:
una vegetativă și alta sporulată, care e mult
mai rezistentă. Să vedem acum ce diferență
este între aceste forme din punctul de vedere al
sterilizării. -

Se știe că în construcția victuoarelor intră
în mare parte substanțele albuminoide; aceste
substanțe se coagulează prin ridicarea tem-
peraturii peste 55° - 60° . Când însă substanțele
albuminoide dintr-o celulă se coagulează, celu-
la moare. -

Când facem o cultură de bacili ai
cărbunii, vom obține forme filamentoase
care nu conțin spori. După câtăva vreme
apare și sporul, care reprezintă forma de re-
zistentă. Cu toate speciile microbiene prezintă
forma de rezistentă, o bună parte existând
numai sub forma vegetativă. Printre microbii
saprofiti, bacilus subtilis, are un spor foarte
rezistent față de căldură. -

Nu trebuie să confundăm cu sporii
unele granulații, care reprezintă substanțe
de rezervă, sunt corpusele metacromatice
ai lui Babes și Czest. -

Prin ce e caracterizat sporul? La un mo-men-

nt dat o parte a celulei microbiene se dife-
 zentiază, apărând la extremitatea celulei un
 mic organ refringent, foarte greu colorabil,
 e sporul. El se deosebeste de forma vegetativă
 prin faptul că este inconjurat de o membrană
 foarte groasă, și mai ales că conține o proporție
 foarte slabă de apă. Pe când forma vegeta-
 tivă a lui *Penicillium glaucum* conține pro-
 porția de 85% apă, în spor proporția este de
 38%. Când e vorba de sterilizare prin căldură
 deosebin: în mediu umed și în mediu uscat.

În mod general microbii sunt distruși
 în atmosferă umedă la o temperatură infinit
 mai joasă decât în atmosferă uscată, și
 sporii sunt mai rezistenți la căldură decât
 formele vegetative. Aceasta se poate vedea și
 în tabloul de mai jos:

<u>Specia</u>	<u>Atmosferă umedă</u>	<u>atm. uscată</u>
<u>Microbul cărbunelui</u> e distrus în câteva minute	{ forma veget. 65° " spor 110°	140°
<u>Microb. tetanosului</u> e distrus în 10 minute	{ forma veget. 70° " spor 120° max. 150°	minim.
<u>Lezvele.</u>	{ forma veget. 60°-65° " spor 70°	115°

<u>Specia</u>	}	<u>Atmosf. umedă</u>	<u>Atm. uscată</u>
<u>Bacillus subtilis</u>		forma spor	180°

Formele vegetative, în apă se distrag la temperaturii nu prea ridicate. O cultură de difterie în bulion se distrag în 15 minute, streptococul se distrag la 54°, bacilul tific la 55°, holera la 59° și morva la 53° -

Cu totul alt-fel se petrec lucrurile când formele vegetative se găsesc într-un mediu albuminos, furosin, sânge, etc. -

Prin căldură mediul se coagulează și formează o membrană care împiedică sterilizarea și prin urmare trebuie să încălzim la temperaturii foarte ridicate. O spută tuberculoasă trebuie încălzită câte va minute la 100° și apoi să i se adauge o substanță alcalină pentru a dezagrega substanțele albuminoide spre a facilita sterilizarea. -

De ce este ucis un microb când îl încălzim ? - Fiindcă prin căldură se coagulează substanța albuminoasă a microbului și deci îl omorâ. Ori gradul de coagulare este în funcție de fel de fel de circumstanțe fizico-chimice: prezența de electroliti, aciditate, proporția

de apă din protoplasmă, etc. -

Într-o albumină cu cât proporția de apă este mai mică, cu atât ea se coagulează la temperatură mai joasă. Tată un albuș de ou: îl încălzesc la 75° și odată întărit, îi adaug apă însă el nu mai revine la starea dinainte. Această coagulare e zisă irreversibilă. Uscând albul de ou, îl pulverizăm și pulberea încălzind-o la 110° și apoi amestecând-o cu apă se coagulează. Deci apa joacă un mare rol în coagulare. -

Dayen a arătat că animalele reviviscente: Rotiferele, Tardigradele, cari după ce sunt complet desicate își păstrează vitalitatea ani de zile în această stare, sub forma de viață latentă, își revin viața din nou dacă li se dă o pa trebuincioasă. Un tardigrad încălzit în apă moare la 45° , pe când dacă este uscat trece peste temperatura de 100° . -

Toxina tetanică, ca mai toate toxinele microbiene, e foarte sensibilă la încălzire, la 75° e distrusă, și a pierdut toxicitatea prin coagulare. -

Însă dacă înainte de a o încălzi, o uscăm și o pulverizăm, încălzind-o la 130° și

redisolvind-o în apă, o zegăsim cu acciuzi putere toxică, ca la începutul operatiunei.

Procedee practice de sterilizare prin căldură.

O sterilizare se poate face sau la temperaturi joase prin incălzire discontinuă, interpunând între perioadele de încălzire faze de neincălzire - e metoda imaginată de celebrul fiziologist englez Tyndall - sau la temperaturi ridicate printr-o singură incălzire continuă, aceasta putându-se face: sau în mediu umed, sau în mediu uscat.

Aven deci 3 feluri de sterilizare prin căldură.

Sterilizarea prin căldură discontinuă sau Tyndalizarea.

Luăm un recipient cu un lichid contaminat, ce conține și forme de rezistență - sporii - și-l punem într-o baie marină a cărei temperatură se ridică progresiv până la + 55° sau + 58°. Un termometru pus în baie arată temperatura în orice moment. Undată ce temperatura căutată e obținută, se moderează flacăra spre a menține temperatura constantă la acest grad timp de o oră.

După aceasta se lasă să se răcească aparatul, fără a scoate însă recipientul. Operațiunea se repetă în fie-care zi, timp de 7-8 zile de la rândul, după care sterilizarea poate fi considerată ca terminată. Spre a ne asigura de puritatea mediilor ce le sterilizăm în acest mod, e bine ca înainte de a le întrebuința să le lăsăm să stea 2-3 zile într-o etuvă la temperatura de 37° și recipientul în care se va dezvolta vre-o cultură, va fi încălzit. Pentru ca temperatura să nu depășească 58° - 60° , ceace ar provoca coagularea albuminei și pierderea materialului de cultură, ne servim de o baie marină specială, prevăzută cu un regulator cu care în mod sigur nu depășim temperatura fixată. Acest procedeu de sterilizare este întrebuințat pentru sterilizarea serurilor, diastazelor, cari se disting la temperaturi prea înalte. Tyndalizarea o putem efectua și prin ajutorul autoclavului, ținând timp de o jumătate oră o cultură la autoclav la temperatura de 100° trei sedinte consecutive, separate prin faze de răcire, sunt suficiente pentru a omorâ formele sporulate. —

Cum se explică distrugea sporilor prin acest procedeu ? -

Tyndall credea că în cursul unei încălziri moze formele vegetative; în timpul răcirii o parte din spori se hidratează, germinează și se transformă în forme vegetative care moze la încălzirea următoare. Cu alte cuvinte sporii nu se distruge sub forma lor obișnuită, ci trebuie să ia neapărat forma vegetativă. Alți autori însă au arătat că deoarece germinarea sporilor nu are loc la zero grade și totuși sterilizarea se face când în intervalul dintre încălziri lăsăm lichidul contaminat la această temperatură - explicația dată de Tyndall, rămâne inacceptabilă, temperatura de germinare a sporilor fiind între 30° - 35° - 37° . -

Țată însă ce se întâmplă în realitate:

Sub influența unei serii de încălziri și răcirii sporul se hidratează subit, se dilată și în virtutea principii osmozei, el va fi mai ușor pătruns de apă și deci va avea proprietățile formei vegetative, fiind foarte sensibil la temperatură, va fi distrus sub forma lui obișnuită. -

II Metode de sterilizare prin încălzire continuă.

a) În mediu umed.

I Sterilizare prin fierbere în apă sau uleiuri. - Se pot steriliza instrumentele metalice, seringele, și chiar obiectele de sticlă. Acest mod de a steriliza, cu toate că poate deveni perfect adăugând apei săruri care să-i ridice punctul de fierbere - clorurul de sodiu îl ridică la 109° , clorurul de calciu, la saturatie, îl ridică la 170° - are însă neajunsul că instrumentele fiind umede se ruginesc în contact cu aerul. Însă prin acest mod bacteriologul va putea face sterilizarea culturilor pe care le aruncă, a pipetelor ce au servit la însămânțare, a instrumentelor după o autopsie, într'un cuvânt a tuturor obiectelor contaminate de microbi patogeni, ce nu trebuiesc aruncate la întâmplare într'un laborator. O marmită mare de fontă smălțuită va fi totdeauna gata de a primi aceste obiecte și în fie-care seacă se va umple cu apă și se va supune la fierbere. Se vor putea deasemenea steriliza

în modul acesta animale mici moarte de afecțiuni contagioase. -

2° Sterilizarea prin vapori la o presiune, procedeu introdus în bacteriologie de Koch. Obiectele sunt ținute la o temperatură de 100° în vapori de apă. La o temperatură egală, vaporii sterilizează mai repede decât aerul atmosferic, deoarece căldura umedă pătrunde mai bine în obiecte decât temperatura uscată.

Acest mod de sterilizare este mai ales aplicabil substanțelor lichide sau evaporabile. -

3° Sterilizarea prin vapori sub presiune. - Autoclavul. -

Ce este autoclavul? - Este o mașină de fierbere în care fierbe apa și producându-se vapori avem presiune considerabilă, și astfel apa își ridică punctul de fierbere. A fost inventat de Chamberland, asistentul lui Pasteur. Se compune dintr-un recipient de cupru, foarte rezistent, sub care se așază o baterie de becuri Bunzen. În fundul recipientului se pune apa, iar deasupra apei

un coșuleț de sârmă care nu trebuie să intre în apă, și în care vom pune obiectele de sterilizat. Aparatul este astupat printr-un capac care se poate strânge pe cazan prin ajutorul unor serii de piulite; între cazan și capac există o rondelă de cauciuc.

Capacul prezintă 3 organe:

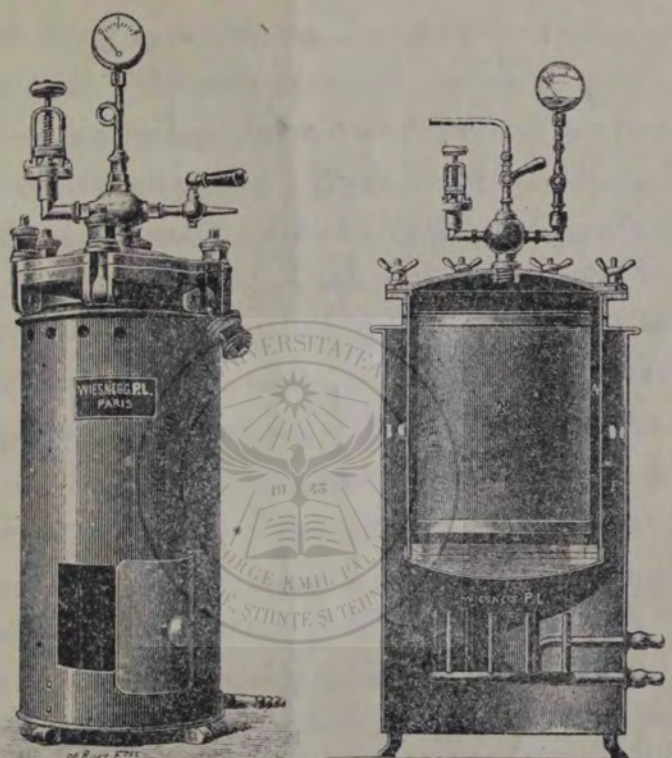
- 1 - Un tub de degajare pentru vapori (cu robinet)
- 2 - O supapă de siguranță și
- 3 - Un manometru, care indică presiunea

interioară și e gradat în așa fel să ne arate și temp. a apei; la o atmosferă corespund 120° .

Technica sterilizării cu autoclavul:

Turnăm apă, punem obiectele de sterilizat în coșuleț, punem capacul și strângem piulitele cu mâna, nu cu cheia, căci cu cheia se strâng prea tare, strică rondela de cauciuc și ocuziunea hermetică nu se mai poate face. Odată aparatul închis trebuie să observăm ca tubul de degajare să aibă robinetul deschis.

Apoi dem becurile apropiind chibritul de ele și apoi deochizându-le; așteptăm până ce fierbe apa, lucru ce se cunoaște prin vaporii de încep să iasă prin tubul de degajare. -



Autoclav Chamberland.

Pentru a obține o temperatură superioară
trebuie să închidem robinetul de vapori. Dar
acest robinet nu trebuie închis când fierbe apa,
căci în acest caz am avea în recipient un
amestec de apă, vapori și aer și ast. fel pre-
siunea manometrică arătată nu ar correspu-
nde presiunii vaporilor. Prin urmare un
sfat foarte important: închideți robinetul
după expulzarea aerului din recipient. Cum
se apreciază acest moment? La început vaporii
care ies sunt discontinui, fiindcă în recipi-
ent este la început o echilibrare a presiu-
rilor nu și a temperaturilor, iar după câțor
va vreme vaporii ies în jet continuu; este si-
gnur că tot aerul este și în acest moment
putem închide robinetul. Așteptăm ca acul
manometric să se ridice până la 1° - deci
temperatura de 120° și aci lăsăm timpul
necesar sterilizării. Pentru aceasta mai
sting câteva becuri și după $\frac{1}{2}$ oră operația
să terminat. Când vom să scoatem obiectele
puse la sterilizat, stingem toate becurile și
așteptăm până ce acul manometrului
să scoboară la 0° . În autoclav avem acum
vid din cauza condensării vaporilor. -

Dăm drumul robinetului să intre aer și apoi desfacem capacul. După ce am stins flacăra nu trebuie să deschidem robinetul brusc, căci presiunea va scade prea repede în autochav și ar rezulta un dezechilibru între presiunea din baloanele de sterilizat și cea din aparat, lucru ce se traduce prin săvârșirea dopurilor de la baloanele cu mediu de cultură și operația ar fi zădărnicită. O ultimă precauțiune de luat este ca imediata ce

acul manometric este în dreptul diviziunii 0° să deschidem imediat aparatul, pentru că în interior este vid și presiunea atmosferică nemai fiind contrabalansată, capacul va fi apăsât cu putere pe aparat și se va strica rondeta de cauciu. -

Se intâmplă de multe ori să avem afacere cu autochavre vechi și atunci va trebui să ne convingem dacă presiunea din aparat corespunde cu aceea arătată de manometru

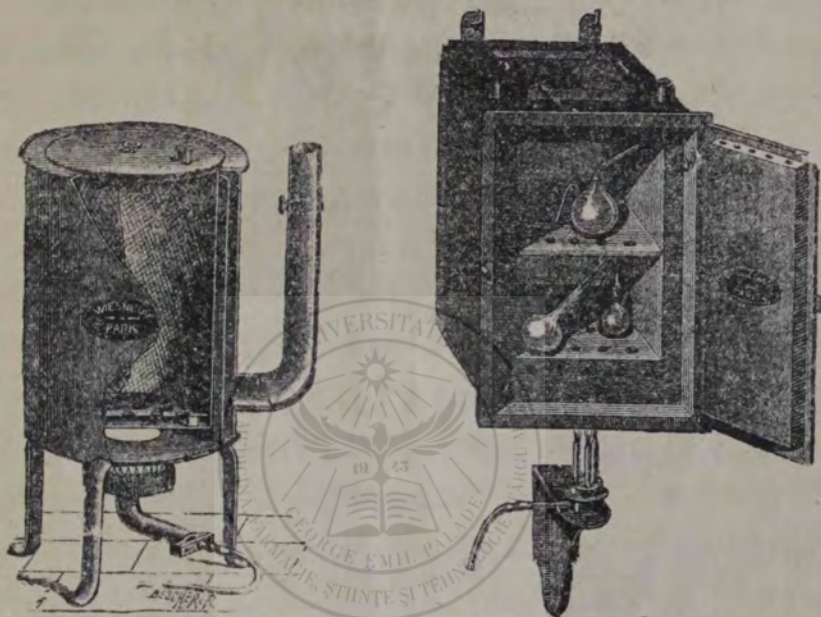
Sunt multe mijloace pentru aceasta. Un mod costă în a introduce în autochav un tub cu floare de sulf, care se topeste la 115° dacă obținem topirea și manometrul arată 115°, atunci aparatul e bun. -

Sterilizare prin încălzire continuă în mediu uscat.

Ne servim de cuptorul lui Pasteur. Acest aparat se compune dintr-un cilindru de tablă cu pereții dubli; spațiul dintre pereți servește la degajarea gazelor rezultate din combustie. Un capac de tinichea cu un buton închide aparatul la partea superioară; acest capac mai prezintă un orificiu pe unde este introdus un termometru gradat până la $+200^{\circ}$. Căldura este procurată de o baie de becuri Bunsen dispuse în coroană și așezate sub cuptor. Un panou de pănușă metalică, exact de dimensiunea cuptorului, servește pentru așezarea obiectelor de sterilizat, cari nu pot fi decât: sticlăria, porțelanurile și obiectele de oțel cu mânerul de nichel. Compusii organici afară de vată, hârtie, nu pot fi sterilizați prin acest mijloc. Epurările sticle și în genere obiectele de sticlă vor fi bine uscate, învelite în hârtie și apoi puse în panoul metalic; se aprinde gazul luă-

ndu-se precauțiunea de a duce chibățul
aprus deasupra cocoanei de becuri înainte
de a fi deschis robinetul gazului, pentru a
întătura o explozie periculoasă, ce ar fi
produsă prin amestecul gazului cu aerul
continut între pereții dubli ai aparatului.
Se lasă să se ridice temperatura până la
180°, se regulează apoi flacăra închizând
și deschizând timp de o jumătate de oră
suficient pentru a steriliza obiectele din
cuptor. În practică zarne servim de
termometru; după ce s-a dat drumul gazului
și s-a aprins becul, se ridică din când în când
capacul spre a ne da seama de culoarea
vatei sau a hârtiei de filtrat, se stinge flacăra
de îndată ce observăm că vata a luat culoarea
cafelei cu lapte. Va trebui să lăsăm stă-
clăria în cuptor până ce aceasta se va ră-
pe de o parte pentru a întătura o bușcă
schimbare de temperatură, capabilă să spa-
rgă obiectele de sticlă, iar pe de altă parte
pentru că vidarea căldurii de pe pereți con-
tinuând încă câteva timp, completează
sterilizarea.

Când temperatura este ridicată peste 180°



cuptor Pasteur

sterilizator Poupinel

cât se coace sau se prelungește sterilizarea
mai mult decât trebuie, atunci vata ia o
culoare ciocolatie, devine pulverulentă și
poraful din afară încărcat cu tot felul de
germeni va păbunde prin ea. -

Sterilizarea prin mijloace mecanice.

Filtratia.

Sterilizarea prin căldură este întemeiată
pe distrugerea germenilor vii, expunându-i
la o temperatură înaltă. -

Sterilizarea prin filtrare este întemeiată
pe separarea mecanică a lichidului infectat
de germeni pe care îl conține. Germenii
rămân pe filtru, iar lichidul absolut steril
trece într-un recipient. -

Care sunt avantajele sterilizării prin
filtrare asupra sterilizării prin căldură. -

Există o multime de substanțe alterabile
prin căldură; toxinele microbilor: tetanic,
difteric, al ciurii, etc, care aparțin grupului
diastazelor și care se distrug între 60° - 70°, și

de aceea în acest caz ne folosim de metoda sterilizării prin filtrare. Tot de această metodă ne servim și pentru sterilizarea serurilor. Atât pentru diastaze cât și pentru seruri am spus că se poate îndrebuința: Tyndalizarea, dar aceasta are neajunsul că cere timp prea mult și pe lângă aceasta anticorpii normale și cele bactericide dui ser se disting între 55° - 65° , așa că prin sterilizare prin căldură discontinuă, unde avem nevoie de o temperatură de 58° - 60° , constantă, riscăm să ommicim proprietățile serului lipsindu-l de elementele active.

Filtrarea este un mijloc pretios pentru izolarea unor specii microbiene. Așa sunt microorganismele invizibile, inobservabile la microscop și cari pot străbate. prin filtru. Cu modul acesta le separăm de microorganismele mai mari, cari rămân pe filtru.

Așa dar în laborator filtrul se îndrebuințează în următoarele împrejurări:

1) Pentru a steriliza substanțele cari prin căldură s'ar putea altera. -

2) Pentru separarea microbilor invizibili, cari trec prin filtru, de microbii vizibili pe

care îi reține fiboul.

Înainte de a vorbi de mecanismul filtrației să vorbim ceva despre soluțiile coloidale sau psardosoluțiile.

Ce numim o soluție coloidată? Să luăm un exemplu:

Sată un mel destictă de fundul căruia am fixat o membrană dializabilă. În acest vas astfel format, vom o soluție salină clorur de sodiu sau sulfat de cupru. Introduc acest vas într-un alt vas în care am apă obișnuită. Am deci 2 lichide separate printr-o membrană. Ce se va petrece? Vom vedea că soluția de Na Cl. difuzează încetul cu încetul în apă ambientă, - fiindcă se văd în cazul SO^4 cu dungi albastre corespunzătoare cu difuziunea sulfatului de cupru. Avem a face cu un fenomen de difuziune printr-o membrană dializabilă. Dacă însă în loc de Na Cl. am introduce o soluție de albumină - un albuș de ou, diluat în apă, având aparența unei soluții - sau un ser animal, sau o soluție de chitin sau de amidon, ei bine vom vedea că de astă dată nu se va face nici o difuziune prin membrană.

soluția de albumină va rămâne în vasul interior, avem afare cu substanțe nedializabile. -

Din acest punct de vedere soluțiile se pot grupa în două: cristaloid și coloid. -

Substanțele din primul grup având caracter comun de a fi cristalizabile și solubile în apă, prin urmare de a fi dializabile; al doilea grup de substanțe căruia aparțin în mod general substanțele proteice, substanțe ce nu sunt cristalizabile și nu se dizolvă în apă, prezintă un caracter comun de a nu fi dializabile. -

Studiul substanțelor coloidale prezintă în biologie un interes general, deoarece aproape toate materiile celulei vii sunt substanțe coloidale. -

Definiția substanțelor coloidale și a celorlalte substanțe, este că cele din urmă difuzează printr-o membrană pe când substanțele coloidale nu. Și în lumea anorganică avem substanțe coloidale: acidul silic. -

Structura substanței coloidale.

Soluție de albumină spre exemplu:

cuprînd mai ales două elemente: un excipient lichid, apa spre exemplu în care e efectuată pseudo-soluția, și o suspensiune de particule excesiv de mici dispersate în lichidul excipient și care constituiesc substanța coloidală propriu zisă. Ast-fel într-o soluție de albumină avem pe deo parte apa constitutivă, în care însoțită suspensiunea și apoi particulele coloidale - micellele ce sînt suspendate în lichid și cari avînd dimensiuni microscopice dau impresia unei soluții. -

Avem deci 2 faze, precum se zice, substanța excipientă lichidă și faza dispersată (substanța coloidală propriu zisă în suspensie, dispersată în apă lichid). Faza dispersată poate cuprinde elementele coloidale de natură diferită excipientul poate fi însăși o soluție salină. O substanță coloidală poate să se prezinte sub formă unui lichid, avem atunci ceace numim în limbajul biologic un Sol, sau sub formă unei mase moale, elastică, ca geatina, avem un gel. -

După cum excipientul este apă, glicerină, alcool, avem a face cu un hidro-sol, glicerino-sol, alcool-sol, etc. -

Într-o soluție coloidală dimensiunile particulelor în suspensie, pot varia de la ultra microscopice până la microscopice, cu toate intermedierele posibile. -

Proprietățile generale ale soluțiilor coloidale.

Una din ele, citată mai sus, este aceea că nu difuzează, au sunt dializabile. Separând un sec sanguin printr-o membrană, vom observa că sărurile de ser trec prin membrană, particulele coloidale însă rămân. -

Altă proprietate este mişcarea browniană, care se observă la microscop, atât cu soluțiile coloidale propriu zise, cât și cu suspensiunile cu particule mai mari. -

În ce constă această mișcare? Examinând sub microscop o picătură dintr-o soluție în care se află în suspensie o pulbere excesiv de fină, veți constata că particulele sunt în mișcare, această mișcare nefiind viată, dar este neîntreruptă, se produce sub formă de mișcări în zig-zag. Această mișcare se produce cu suspensiunile excesiv de fine, și-a fortiori în soluțiile coloidale în miceli. Mișcarea browniană este caracteristică

suspensiunilor coloidale și a celor fine. Care este explicația acestor mișcări? Azi toți fizicienii sunt de acord că mișcarea browniană este expresia vibrațiilor moleculare. O altă proprietate a soluțiilor coloidale, care interesează mai puțin, este că difuzează lumina, fie care particulă fiind în centrul reflexiei fenomen asemănat cu fenomenul lui Tyndall cu prafulurile ultra-microscopice din aer. -

Altă proprietate este că elementele din suspensiune au o încărcătură electrică proprie introducând într-o soluție coloidală electriți, vom vedea că după felul substanței conținute, unele din particule se vor aduna în jurul anodului, altele în jurul catodului. În fine un caracter-singular care ne interesează la filtrație - este proprietatea de adsorbție.

Această proprietate este fundamentală constituind întregul mecanism al filtrației. -

Adsorbția constă în faptul că atunci când o suspensiune excesiv de fină, vine în contact cu un perete poros, sau cu o altă

substanță coloidală, se produce între ambele elemente o tendință de alipire, un fenomen de adeziune fizică, așa de tare, încât disocierea ulterioară a elementelor, devine aproape imposibilă. - Acest fenomen de adeziune, cuasi-moleculară, poartă numele de adsorbție. -

Câteva exemple: Iusti o pulbere de cărbune, excesiv de fină (negru animal. introdusă o mică cantitate într-o soluție de fucsina, agitată și vedeți că soluția colorată s-a decolorat. Soluția s-a alipit de particulele de cărbune; această adeziune a particulelor de culoare asupra particulelor de cărbune, constituie fenomenul de adsorbție. Dacă am lua o substanță coloidală anorganică, acidul silic, amestecat cu o soluție de fucsina, soluția se va decolora. Toată industria tinctorilor, vopselilor, a coloranților în industria textilă, este bazată pe fenomenul de adsorbție. Dacă într-un vin turbid (un bul albușuri de ou, el se clarifică, fiindcă rețeaua de albumină - în virtutea adsorbției - atrage către sine toate particulele în suspensie din vin, depunându-le în fundul vasului.

Studiul filtrațiilor. De unde s'a născut ideea întrebării filtrației ca mijloc de sterilizare ?

Pasteur și Joubert au constatat că apa izvoarelor este sterilă, lipsită de microbi, deși provine dintr-o apă care a adunat la suprafața solului tot felul de germeni.

Aceștia însă sunt reținuți în straturile pământului care formează un adevărat filtru poros; în acele straturi apa se infiltrează prin nenumărate canalicule, care se împăslesc în chipul cel mai variat, formând o rețea f. complexă; în această rețea rămân microbii ce sunt în suspensie în apă.

Canaliculele acelea, cu un diametru mai mare ca grosimea microbilor, așa că ei rămân în canalicule lipiți de peretii acestora în virtutea forței de atracțiune munită aderințe moleculare sau fenomen de adsorbție. -

Ei bine, când facem să treacă printr-un filtru o soluție de particule fine, nu facem, decât cease face apa trecând prin pământ. De aici au plecat Pasteur și

Chamberland spre a construi primite filtre de portelan. -

Fenomenul filtrației consistă în trecerea
unei lichid printr-o masă poroasă, particulele
fiind reținute în virtutea fenomenului de
adsorbție.

O soluție în care sunt bacterii, ele vor fi reținute de filtru, deși diametrul lor este mai mic ca diametrul porozității lor., ele sunt reținute tocmai în virtutea adsorbției. S'a comparat grosimea microbului față de lumienul canaliculelor, cu cel al celui ce există între un vagon și tunelul prin care trece. -

Când avem a face cu soluții coloidale adevărate (albumină, ser) filtrațiunea devine o operațiune grea, deoarece particulele coloidale fiind mici și foarte numeroase și proprietățile adesive f. intense, filtrul se astupă - se colmatează - și orice permeabilitate dispăre. Sunt însă reguli generale care diminuează aceste neajunsuri. -

În mod general o suspensiune colo-
idala trece cu atât mai repede prin

filtrau cu cât e mai diluată. Altă condi-
țiune este temperatura. - O suspensiune
coloidală cu atât mai repede și mai com-
pletă, cu cât temperatura e mai ridicată.

Se admite că activitatea filtrației
este îndoită când temperatura se urcă
20° (fără a ajunge însă punctul de
coagulare al albuminei coloidului nostru).
O substanță coloidală trece cu atât mai
rapid cu cât vâscozitatea este mai mare.
(Vâscozitatea este proprietatea specială a
cleiului și care favorizează colmatarea
filtrelor).

În fine ca ultimă indicație, când
este vorba de o soluție coloidală care are
tendința la colmatare: filtrarea se face
mai repede cu cât presiunea este mai
mică. -

Practica filtrației. Bazată pe
fenomenul de clarificare al apei,
Pasteur a construit un filtru de ipsos,
poros, iar Chamberland unul de porțelan.
Substanța întrebuințată în fabricarea
filtrelor este Kaolinul, cu care se construiesc
bougies-urile, care prin încălzire la

1200°, capătă porozitatea cerută. -

Bongie-ul tipic este un cilindru gol, închis la o extremitate, prevăzut la extremitatea deschisă cu un inel de cauciuc, care servește să fie fixat; filtrația făcându-se fie de la exterior la interior, fie invers. -

Yată de exemplu filtrul introdus într-o masă lichidă cu bacterii în suspensie. Din cauza diferenței de presiune lichidul pătrunde de la exterior la interior, bacteriile pătrunzând în canaliculele porozităților, sunt reținute în virtutea fenomenului de adsorbție. -

Un filtru după ce a funcționat câtă va vreme se face mai bun, căci se formează o peliculă fină, organică, care adaugă efectul ei filtrant peretelui poros. -

Yată grosso-modo se sepetrece ca fenomen fizic în mecanismul filtrației. Însă aceasta nu merge la infinit. E adevărat că bacteriile sunt reținute în canaliculele filtrului, dar acolo găsind umezeală și săruri minerale, două condițiuni favorable dezvoltării și

inmultizilor, vegetează, progresează pe
canalicule și ajungând în cavitatea centu-
rată a filtrului vor esi odată cu apa și o
vor infecta. De aceea la 3-4 zile filtrul
trebuie curățit. -

Verificarea filtrului. Înainte de a în-
trebuița filtrul va trebui să luăm mai
multe precauțiuni. Vom observa dacă filtrul
este spart, în care caz trecerea microbilor
s-ar face cu ușurință și filtrul n-ar fi de
nici un folos. Pentru aceasta se -cufundă
lumânarea până la extremitatea deschisă
într-un vas cu apă; cu o pară de insuflație,
prevăzută cu un tub de cauciuc, se comprimă
prin extremitatea deschisă, aerul din inte-
riorul bougie-ului. Dacă există o spărtură
invizibilă cu ochiul liber, se observă în
apă câteva mici bule de aer. Aceasta
este verificarea continuității peretilor fi-
ltrului. Ne închipuim acum că am ales
filtrul care funcționează bine. -

Cum trebuie să-l întreținem? -

La 2-3 zile se desurubează, se perie bine
cu o perie aspră și cu o soluție de perman-
ganat de K, se fierbe filtrul în apă timp

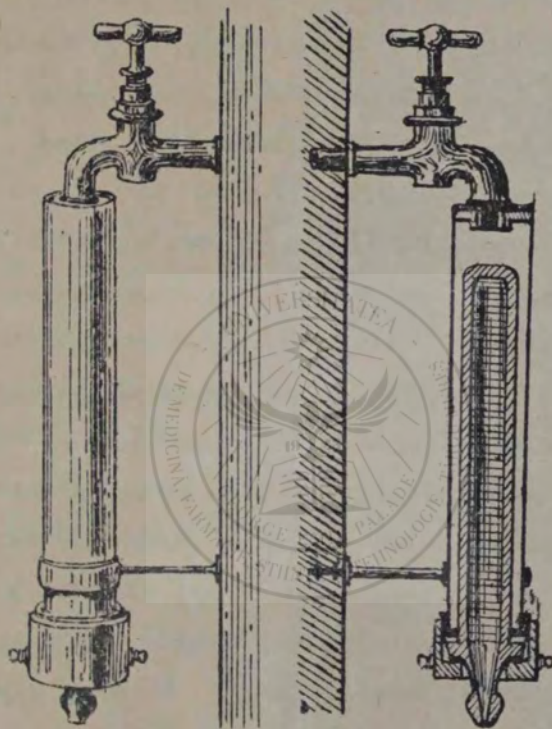
de 15-20 minute. Dar această periare și
ferbere în apă carbonată, devine insufici-
entă pentru curățirea filtrelor și buna
lui funcționare, căci cadavrele microbilor
omozăți prin ferbere astupă porozitățile
filtrelor făcându-le impermeabil. Deci după
1-2 luni de funcționare reavgem la rege-
nerarea filtrelor care se face stergându-
le bine, uscându-le și calcinându-le (ținându-
le 2-3 ore în mijlocul unor cărbuni inca-
ndescenți). Odată regenerat, se trece im-
mediat de apă curată, care îndepărtează
cenusa cadavrelor microbilor. —

— Diferite feluri de filtre. —

Filtrul Chamberland, descris mai
sus, din care avem o serie întreagă desi-
gnate în comerț cu litere. Cel mai între-
buințat este cel cu litera B. În laborator
avem L¹ - L¹⁰. —

Filtrarea în tehnica de laborator
se întrebuintează când vom să sterilizăm
un lichid ce s'ar altera prin căldură. —

Când avem toxine microbiene ne servim
de filtrul Martin, care se compune dintr-
un cilindru metalic B., la partea superioară

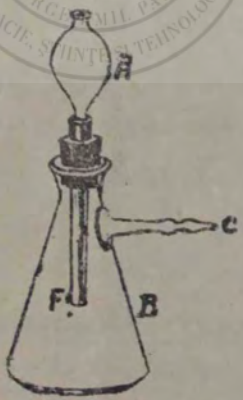
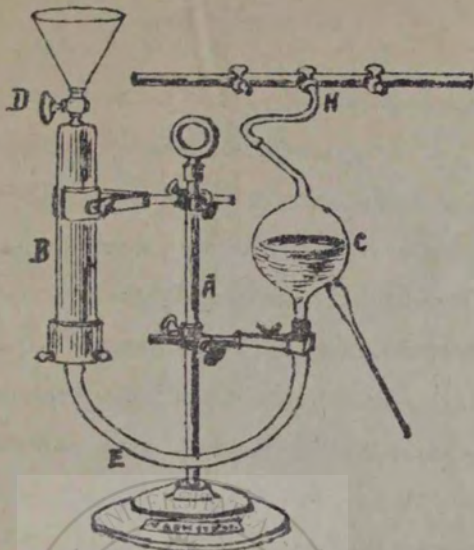


Filter Chamberland.

a cărnii există o pălnie metalică cu un robinet D. În pălnie se toarnă spre exemplu cultura de bac ili difterici; lichidul pătrunde în cilindrul metalic și trecând prin filtrul ce se găsește acolo, ajunge prin intermediul tubului de cauciuc E. până în balonul C. în care este vid. O tubulură menținută închisă tot timpul operațiunii va permite la sfârșitul filtrațiunii să reparațizăm lichidul în tuburi și fiole sterilizate. Vidul în balonul C. se face prin tubulura H. Toate piesele aparatului trebuiesc sterilizate înainte de a începe filtrațiunea. Odată făcut acest lucru se produce vidul în balonul C. și soluțiunea din filtru nemai având presiune care să o contra balanseze va începe să se filtreze, pătrunzând fără germeni, în balon. La finele operațiunii desfacem tubulura închisă a balonului și recoltăm toxina. În această operațiune de filtrare a toxinelor vom avea de observat 2 lucruri: I Filtrarea trebuie făcută sub o presiune f. slabă, pentru că sunt unele toxine, precum cea tetanică de exemplu, care conține o substanță albuminoasă ce

poate astupa porii fibrelor, lipsindu-se de pereteii canaliculelor, astupându-le uneori și împiedicând filtrarea. Substanțele albuminoide colmatează (astupă) filtrul. Cu cât vom avea, face cu soluțiuni mai bogate în substanțe albuminoide, cu atât presiunea filtrării trebuie să fie mai mică. II. Deseori pătrund în tubul metallic, bule de aer, care împiedică filtrarea. De aceea suflăm din când în când, în lichid printr-un tub de sticlă pentru a se degaja bulele de aer. —

Pentru izolarea microbilor invizibili se întrebuintează un aparat numit filtrul lui Kitasato compus dintr-un flacon conic de sticlă groasă B. prevăzut cu o tubulură laterală C. ce este pus în contact cu un robinet cu apă. — Căptul flaconului este astupat cu un dop de cauciuc, prin care pătrunde filtrul F. Partea deschisă a filtrului este în legătură cu o ampulă de sticlă A. Aparatul este sterilizat înainte de a fi întrebuintat; după aceea se toarnă lichidul de filtrat în ampula A. Se face vid în balonul B. și lichidul din filtrul F.



Filtreul Nitratu.

care este în comunicare cu atmosfera, va începe să se scurgă în balon. —

Filtrul Bezkefeld e constituit din pământ de infuzorii, o argilă specială care dă un filtru cu porozitate mult mai mare decât aceea a filtrului Chamberland, și de aceea filtrarea se face în mod imperfect. Mai are dezavantajul că odată întrebuintat nu mai poate fi regenerat. —

În comerț există mai multe feluri de filtru Bezkefeld:

- 1) Tipul normal notat cu litera **n**, prezintă permeabilitatea normală. —
- 2) Tipul notat cu litera **M** (mil) care prezintă o permeabilitate f. mare. —
- 3) Tipul notat cu litera **M** (monig) care este cel mai puțin permeabil; de aceea este cel mai mult întrebuintat în practică. —

Indicații generale asupra tehnicii izotărei microbilor invizibili. —

Obună parte sunt microorganisme producătoare de boale cunoscute, unele la animale, altele la om, cari însă

vizibilității microscopice. Caracterul lor este că sunt filtrabile. Ori existența lor și caracterizarea lor n-a putut fi făcută decât grație filtrației. —

Exemple de virusi filtrabili.

În acest orzdu de idei primul tip este microbul peripneumoniei bovidelor. Această boală produce un exudat infectant. Ace sta injectat animalilor sănătoase reproduce boala. Pentru a-l filtra va trebui să-l diluăm cu apă într'un volum de 30-40 ori mai mare decât al său, pentru că exudatul conține substanțe albuminoase, care ar putea astupa canaliculele filtrului. Pentru ca filtrațiunea să fie corectă amestecăm în exudatul diluat și un microb mare cunoscut, ori care ar fi el: *strigțosee*, *stafilosee*, etc. care ne servă ca martor pentru microbul invizibil. Pe lângă aceasta vom lua precauțiunea ca filtrațiunea să se facă repede și sub presiune mare deoarece în condițiuni inverse trec și microbi mari și în fine filtrația să se facă la temperatura de 30°-40°. Tot ca virusi filtrabili putem

cita: microbul febrei aftroase, turebării, variolei, vaccinei, pestei bovine. vâratului oitor, boalei frunzelor de tutun, febrei galbene - și în timpul dui umă al sarcomului gainilor. -

Clasificarea și structura bacteriilor.

Locul bacteriilor în clasificarea generală. -

În lectinnea de azi o să vă dau câteva notiuni despre clasificarea și structura bacteriilor. Să ne întrebăm mai întâi ce loc ocupă bacteriile între ființele inferioare, și locul lor în clasificarea generală. -

Cuvântul microb este un termen vag și înseamnă orice ființă vie, vizibilă la microscop și compusă dintr-o singură celulă. - În mod general microbi cuprind totalitatea ființelor vii unicelulare, fie ființe vegetale, fie ființe animale grupate sub numele generic de Protisti. La baza acestor două grupe există un grup protistic. Caracterul lor este de a fi unicelulare și de a duce o viață liberă. În acest grup al protistilor trebuie de pe acum

să facem o primă deosebire:

protisti vegetali și protisti animali. Protistii animali corespund termenului general de Protozoare: ciliopodele, flagelatele, sporozoarele și infuzoriile -

Al doilea grup e compus din protisti vegetali: bacteriile, algele și ciupercile. Microbii patogeni îi găsim în ambele grupuri dar majoritatea sunt cuprinși în grupul bacteriilor. -

- Ce este o bacterie? E o ființă microscopică unicelulară, cu o dimensiune excesiv de redusă, învârtindu-se între 0,5 μm și 1-10 μm, ființă prevăzută cu o membrană; dacă nu cu un nucleu bine constituit; dar cu oromatină, care se umbrăște prin osmoză și capabilă, cel puțin unele dintre ele, să facă sinteza substanțelor organice.

Protozoarele înglobează substanțe organice deja preformate în afară de ele, ciupercile, care sunt adaptate la viața parazitară-trăiesc în medii elaborate de alte ființe vii. Unele dintre bacterii au propriitatea de a face sinteza substanțelor

7

0,5 μm