

Ricerche su un nuovo metodo per il conteggio dei germi del latte

Dott. L. Attili, dirigente incaricato

(Ricevuto il 22 giugno 1942-XX)

Dal prof. Carlinfanti dell'Istituto Sieroterapico Milanese S. B. nell'ottobre 1941 mi fu cortesemente segnalata la tecnica di un nuovo metodo per la conta dei germi del latte in terreni liquidi, che costituiva in seguito oggetto di pubblicazione (1). Dovendo controllare periodicamente la carica batterica e la colimetria del latte che viene distribuito nell'Ospedale Maggiore, il quale provvede esso stesso al processo di pastorizzazione, ho voluto per lungo periodo, nei riguardi della carica batterica, servirmi contemporaneamente dell'usuale metodo delle piastre di agar e del metodo Carlinfanti.

Premetterò pochi cenni di tecnica rinviando al lavoro dell'Autore per ulteriori dettagli e per l'esposizione delle basi teoriche del metodo.

Materiale occorrente;

pipette graduate da cc. 20
» » » » 2
» » » » 1

Provettoni a fondo piatto del diametro di 3 cm. e di 10 cm. di altezza con coperchio di alluminio o di vetro dell'altezza di 4 cm.

Provettime senza tappo del diametro di 6 cm. e altezza 12 cm. (*)

Brodo comune (pH 6,8).

Ho praticato sistematicamente la conta dei germi sia sul latte crudo sia sullo stesso latte sottoposto al processo di pastorizzazione.

Per il latte crudo mi son servito delle diluizioni:

1.100.000 - 1: 1.000.000 - 1: 10.000.000

Per il pastorizzato: 1: 1.000 - 1: 10.000 - 1: 100.000.

Dopo aver accuratamente agitato i due campioni di latte ho allestito le due diluizioni base: per il crudo 1: 10.000 (ottenuta, come è ovvio, aggiungendo 1 cc di latte a 99 cc di acqua e successivamente passando un cc. di questa soluzione in altro cilindro contenente ancora 99 cc. di acqua), per il pastorizzato 1:100.

1) E. CARLINFANTI, Ann. d'Igiene 52 (1942) N. 1.

(*) La apposita vetreria può trovarsi presso la Ditta Ing. Terzano, via Darwin 21, Milano.

Dalle diluizioni base del latte crudo (1: 10.000) si prelevano con pipetta sterile 2 cc. di materiale e si versano in 18 cc. di brodo ottenendo così la diluizione 1: 100.000. Con altra pipetta da 2 cc. si prelevano altri 2 cc. di materiale dalla diluizione 1: 100.000 e si versano in altri 18 cc. di brodo ottenendo la diluizione di 1: 1.000.000 e così di seguito.

La stessa tecnica si usa per il campione di latte pastorizzato fino ad arrivare alla diluizione 1: 100.000.

Allestite così le diluizioni si prelevano a cominciare dalle ultime di esse 10 cc. con pipetta sterile da 10 cc. e si distribuiscono in 10 provettine (un cc. per provettina già precedentemente riunite a 10 a 10 e sterilizzate in appositi provettoni).

Dopo 48 ore d'incubazione in termostato si fa la lettura contando il numero delle provettine di ciascun provettone, nelle quali si osserva sviluppo batterico. Se è necessario si può effettuare la lettura già dopo 24 ore d'incubazione, senza sensibile errore.

Sviluppo in	Numero dei germi per cmc.
1 provettina	0,111
2 provettine	0,236
3 »	0,378
4 »	0,545
5 »	0,746
6 »	1,02
7 »	1,33
8 »	1,82
9 »	2,60

Dalla tabella che qui riporto è facile calcolare il numero dei germi corrispondenti al numero delle provettine in cui si è osservato sviluppo microbico e risalire al numero di germi per cc. mediante moltiplicazione per il reciproco delle diluizioni. Nel caso che si utilizzino due successive diluizioni per la lettura si prende la media dei due risultati. Il metodo come è facile intendere, è semplice e non implica un'attrezzatura speciale. Non richiede molto tempo al laboratorista: posso affermare che in quindici minuti circa io provvedo all'esecuzione della ricerca su due campioni di latte crudo e pastorizzato. La lettura delle provettine, dopo il periodo d'incubazione e il relativo calcolo sulla guida della tabella, richiede ancora minor tempo.

È anche economica: per i due campioni di latte occorrono circa 150 cc. di brodo comune.

Per la conta dei germi del latte con il metodo delle piastre di agar tenendo conto che bisogna approntare almeno tre grandi piastre per ogni diluizione si va incontro ad un consumo di agar non indifferente specie in questo periodo di emergenza. Ritengo per ciò che il metodo Carlinfanti offra, oltre tutto, al laboratorista l'opportunità di riserbare una notevole

quantità di agar ad usi per i quali detto terreno è strettamente indispensabile.

Ho detto sopra che ho sperimentato contemporaneamente i due metodi sugli stessi campioni di latte per un periodo di circa tre mesi.

Per quanto difficile sia il confronto fra metodi affetti, come è ben noto da errori di notevole entità, posso affermare che in linea generale i valori ottenuti coi due metodi sono in genere pressappoco uguale.

Attualmente nel mio laboratorio il metodo Carlinfanti per i vantaggi che presenta è stato adottato in sostituzione del metodo delle piastre di agar.

RIASSUNTO

L'A. ha sperimentato nella pratica di laboratorio il metodo Carlinfanti per la determinazione della carica batterica del latte. La rapidità di esecuzione e l'economia di materiale, oltre alla notevole precisione, costituiscono secondo l'A. le principali caratteristiche del metodo e rappresentano vantaggi tali da consigliarne l'uso in sostituzione del metodo delle piastre di agar.

ZUSAMMENFASSUNG

Verfasser hat die von Carlinfanti für die Bestimmung der Bakterienladung der Milch angegebene Methode in der Laboratoriumspraxis erprobt.

Die schnelle Ausführung, die Ersparnis an Material und überdies, die bemerkenswerte Genauigkeit, bilden die hauptsächlichsten Merkmale der Methode. Verfasser ist der Meinung dass diese Vorteile ihre Anwendung an Stelle der Agarplattenmethode ratsam macht.