



B6A 1/00

RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ

OPIS PATENTOWY

Nr 1867.

Kl. 30 i 1.

Elektro-Osmose, Aktiengesellschaft (Graf Schwerin Gesellschaft)
(Berlin, Niemcy).

Sposób zabijania drobnoustrojów zapomocą prądu elektrycznego.

Zgłoszono 9 czerwca 1920 r.

Udzielono 8 kwietnia 1925 r.

Pierwszeństwo: 19 sierpnia 1919 r. (Niemcy).

Dotychczasowe sposoby użycia prądu elektrycznego do niszczenia drobnoustrojów, a więc do sterylizacji, dały małe wyniki i przeto pozostały bez praktycznego znaczenia. Istniało ogólne mniemanie, że prąd elektryczny nie może być stosowany do sterylizacji i że nawet dodatnie wyniki, przy których udowodnione było zabijanie drobnoustrojów, miały źródło nie w prądzie elektrycznym, jako takim, ale — w działaniu produktów elektrolitycznego rozkładu kwasów albo zasad na drobnoustroje. Jednakże okazało się, że prąd elektryczny, jako taki, ma wielką zdolność zabijania drobnoustrojów wszelkiego rodzaju, jeżeli tylko prawidłowo są obrane warunki działania prądu na drobnoustro-

je. Idzie w tym wypadku o stosowanie prądu elektrycznego stałego przy ściśle określonych warunkach i przy użyciu określonej aparatury.

W przebiegu prób ustanowiono, że do zabijania drobnoustrojów potrzebny jest elektryczny prąd stały o określonej sile i że wysokie napięcia zupełnie nie wywierają albo wywierają małe działanie na drobnoustroje. Znalezione dalej, że siła prądu do zabijania drobnoustrojów określonego rodzaju jest zależną od rodzaju i zdolności oporu tych drobnoustrojów. Przebieg zabijania jest funkcją siły prądu i czasu działania prądu, jak również zdolności oporu danego rodzaju drobnoustrojów. Mało odporne drobnoustroje wymagają małej siły

prądu, względnie przy określonej sile prądu, zostają zabite już po krótkim czasie, a dla osiągnięcia tego samego wyniku przy bardziej odpornych bakterjach, mianowicie przy bakterjach o podłużnej formie prądem o tej samej sile trzeba działać znacznie dłużej. Ogólnie powiedzieć można, że prąd o 10 — 12 amperach przy napięciu od 20 — 30 woltów i przy powierzchni działania około 400 cm² jest w możliwości zabicia wszystkich dotychczas badanych drobnoustrojów w przeciągu dwóch godzin. Dla wyłączenia wszelkiego ubocznego działania produktów elektrolitycznego rozszczepienia i wyższej temperatury wskazane jest wykonywać proces zabijania pomiędzy odpowiednimi przeponami, najlepiej w t. zw. przyrządzie trójkomorowym.

Przyrząd trójkomorowy składa się ze skrzyni z odpowiedniego materiału, którą w podłużnym kierunku rozdziela się odpowiednimi przeponami na trzy przestrzenie. Sterylizowany materiał napęnia środkową przestrzeń, ograniczoną obydwoma przeponami. Przepony mają na zewnętrznej od środkowej przestrzeni stronie siatkowe albo kratowe elektrody z odpowiedniego materiału, przez które umożliwione jest doprowadzenie prądu elektrycznego do przepon. Przestrzenie zewnętrzne, t. j. katodowa i anodowa, które są ograniczone z jednej strony przez przeponę, a z drugiej — przez ścianki naczynia, wypełnia się wodą, utrzymywaną przez odpowiednie urządzenia w stanie bieżącym.

Materiał, który ma być uwolniony od zarodki, może być użyty w stanie stałym albo płynnym. Jeżeli mają być poddane działaniu prądu elektrycznego ciała stałe, które jednak muszą umożliwiać przenikanie cieczy, to muszą one być nasycone w przestrzeni środkowej opisanego przyrządu roztworem soli kuchennej albo innych elektrolitów, albo ciało stałe zostaje wprowadzone do przestrzeni środkowej, a

pozostała przestrzeń wypełnia się roztworem soli kuchennej albo roztworem innego elektrolitu o określonej zawartości. Stężenie użytego roztworu soli musi być tak wysokie, że pożądana siła prądu osiąga się przy średnim napięciu 20 — 30 woltów.

Dla możliwości dokładnego śledzenia oddziaływania prądu elektrycznego na drobnoustroje, badano przede wszystkim przy próbach czyste kultury bakterji, a mianowicie :

- 1) streptokoki, stafylokoki, meningokoki, pneumokoki i zwykle niechorobotwórcze powietrzne drobnoustroje, następnie

- 2) bacyle dyfterytu, dyzenterji, tuberkulozy, tyfusu, cholery, bakterję coli commune, potem

- 3) bacylusy zapalenia śledziony, tężca, karbunkułu, węglik Fränkel'a, bacyl patrificus Bienstock'a i inne powietrzne i bezpowietrzne bakterje gnilne i t. d.

- 4) wiele zarodki, należących do klasy wytwarzających trucizny, jak wzbudziciele ospy i wścieklizny.

Stwierdzono, że już jest znaczna różnica pomiędzy odpornością oddzielnych rodzajów, wyliczonych pod 1 i 2 drobnoustrojów i bacylów. Streptokoki, stafylokoki i pneumokoki przy działaniu prądu o 10—12 A przy użyciu roztworu soli kuchennej zostają zabite w przeciągu 10 — 20 minut przy stosowaniu niezbyt zgęszczonej emulsji. To samo ma miejsce przy bacylach dyfterytowych, bacylach krwawej biegunki. Odporniejsze są bacyle dyzenterji, które wymagają przy równej sile prądu działania do trzech kwadransów, i najodporniejszemi z tej grupy bakterji okazują się bacyle tuberkulozy, które przestają być zdolnymi do rozwoju dopiero po godzinnym oddziaływaniu odpowiedniego prądu. Bacyle grupy 3 wymagały półtora-dwóch godzin do całkowitego unicestwienia. W wyprowadzonych pod 4 rodzajach daje się zauważyć taka sama różnica, a

mianowicie Virus ospy okazuje się znacznie odporniejszy, jak wścieklizny.

Po stwierdzeniu tych faktów na czystych kulturach najrozmaitszych drobnoustrojów, czyniono doświadczenia uwolnienia od zarodki prądem elektrycznym dowolnego, zawierającego bakterie materiału. Naprzykład, wprowadzono do środkowej przestrzeni zgniłe mięso w kawałkach o szerokości 5—6 cm albo grubości $\frac{1}{2}$ — 1 cm wraz z roztworem 1%-ym soli kuchennej, przyczem działanie prądu o 12 A musiało trwać 12 godzin dla uwolnienia mięsa od zapachu i zabicia wszystkich zawartych w nich bakterji gnilnych.

Ponieważ w przyrządzie występuje bardzo prędko wyczerpanie elektrolitu, to dla utrzymania pożądanej siły prądu potrzebne jest dodawanie od czasu do czasu elektrolitu do przestrzeni środkowej. Po zniszczeniu zarodki nadmiar elektrolitu może być usunięty drogą elektroosmotyczną; temperatura może być regulowaną przez dopływ wody do przestrzeni anodowej i katodowej, przeciętnie pracuje się w temperaturach od 18 — 25°C. Przy sterylizacji płynów korzystnem jest utrzymanie w ruchu płynu w środkowej przestrzeni przez rury albo przez wprowadzenie obojętnych gazów, jak azot albo kwas węglowy. Jako przykład sterylizacji płynów podana jest poniżej sterylizacja preparatu szczepionki dyfterytovej, zanieczyszczonej przez znaczną ilość zarodki dowolnego rodzaju. Przez dodanie soli kuchennej szczepionka została doprowadzona do zawartości 1,2% soli kuchennej, następnie wprowadzona do przestrzeni środkowej przyrządu i w przeciągu 2 godzin poddana działaniu stałego prądu o 10 A przy napięciu 25 woltów przy temperaturze 20°. Po tym czasie szczepionka, która przedtem zawierała 10 000 zarodki w jednym cm³, była całkowicie sterylizowana bez jakiegokolwiek widocznej zmiany szczepionki i bez jakie-

gokolwiek uszkodzenia zawartości jej antitoksyny.

Sposób szczególnie się nadaje do sterylizacji substancji, ulegających zmianom od gorąca albo przez wpływ chemicznych czynników.

Sposób według wynalazku daje się dalej stosować do wytwarzania właściwych szczepionek. Okazało się, że przy poddawaniu czystych kultur drobnoustrojów temu postępowaniu otrzymuje się martwe bakterie, nadające się w wybitny sposób do sporządzania właściwych szczepionek.

Do sporządzania właściwych szczepionek z bakterji postępowano dotychczas w ten sposób, że z czystych kultur bakterji oddzielano bakterie wirówką i wymywano je izotonicznym roztworem soli kuchennej, następnie pogrążano je znów w izotoniczny roztwór soli kuchennej i zabijano bakterie przez działanie gorąca (56—60°) albo przez działanie dezynfekujących środków (fenolu, trójkrezolu, eteru i t. d.). Z emulsji zabitych bakterji wytwarzano rozcienienia z określoną ilością zarodki w 1 cm³ i używano bezpośrednio, jako szczepionkę. Metoda ta miała tę wielką wadę, że przez ogrzanie do wyższej temperatury albo również przez działanie środków dezynfekcyjnych było wywoływane znaczne nadwężenie własności odpowiednich rodzajów bakterji, wskutek czego wyniki, otrzymywane przez sporządzane w ten sposób tyfusowe i cholerowe szczepionki, pozostawały bardzo nieznaczne.

Fakty powyższe były znane i wskazywano niejednokrotnie na szkodliwy wpływ temperatury i chemikaliów, wskutek czego niejednokrotnie dążono do znalezienia środków, dążących do zabicia bakterji w możliwie ochraniający sposób. Temperaturę, poprzednio używaną do zabijania (60°), obniżono w ostatnich czasach do 56° i porzucono wszystkie silnie działające środki dezynfekcyjne, jak krezol i fenol,

natomiast, jako odpowiedni środek, używany był eter.

Okazało się, że bakterje, zabite stosownie do wynalazku prądem elektrycznym, nadają się daleko lepiej do wytwarzania szczepionek od zarodki, zabitych gorącem albo chemikaljami. Gdy np. szczepionka, wytworzona z bacylów krwawej biegunki, zabitej przez ogrzanie do 56° , była w stanie dopiero w ilości 1 cm^3 przedłużyć życie białej myszy, zarażonej bacylami krwawej biegunki w 11 dni po ochronnym zaszczepieniu, o kilka dni, to szczepionka wytworzona z bacylów krwawej biegunki, zabitych prądem elektrycznym, w ilości $0,01$ zdołała w tych samych warunkach całkowicie zapobiec śmierci. Rozumie się, że obie szczepionki były ustawione na tę samą liczbę zarodki. Podobnie dodatnie wyniki zostały osiągnięte przy streptokokach, pneumokokach, bacylach tyfusowych, dyfterytowych i wielu innych.

Okazało się dalej, że dla każdego rodzaju bakterji istnieje określona granica siły prądu, poniżej której nie następuje zabijanie nawet przy długim czasie trwania działania prądu na drobnoustroje. Stwierdzono, że prądy elektryczne, których siła nie wystarcza do zabijania bakterji, wywołują jednak pewne zmiany, wyrażające się tem, że bakterje utracają chorobotwórcze działanie, ale pozostają zdolnymi do rozwoju na sztucznych odżywkach. Identyczne działanie może być osiągnięte w ten sposób, że prądem, którego siła wystarcza do zabicia bakterji, działa się na nie przez niewystarczającą ilość czasu.

Następujące przykłady wyjaśniają podane okoliczności.

1) Kultura pneumokoków o silnej chorobotwórczości dla białych myszy i świń morskich zostaje wprowadzona na stałą odżywkę. Drobnoustroje zostają po rozwoju oddzielone od substancji odżywczej zapomocą fizjologicznego roztworu soli

kuchennej i przez dłuższe wstrząsanie w roztworze soli kuchennej przerobione na emulsję, która przedewszystkiem zostaje poddana działaniu prądu elektrycznego w środkowej przestrzeni składającego się z trzech części przyrządu, przyczem prąd o sile $10\text{--}12\text{ A}$ przy czynnej powierzchni elektrod o 400 cm^2 działa w przeciągu $1\frac{1}{2}$ godziny. Próby pokazały, że pneumokoki po tym czasie zostały zupełnie zabite. Przy użyciu do emulsji, sporządzonej w ten sam sposób z żyjących pneumokoków prądu o tej samej sile, ale gdyby próbę przzerwano po $\frac{1}{2}$ godzinie, to okazałoby się, że drobnoustroje, przeniesione na odżywkę, są zdolne do rozwoju i w ciągu 24 godzin okazują bardzo znaczny rozrost, że jednak chorobotwórczość ich przy zaszczepieniu, jak się to okazało na białych myszach i morskich świnkach, została zniszczona. Przed działaniem prądu elektrycznego wystarczało dla zabicia białej myszy $0,01\text{ cm}^3$ z emulsji i $0,1\text{ cm}^3$ dla zabicia świnki morskiej o ciężarze 250 g w przeciągu 3—4 dni. Po półgodzinnem oddziaływaniu prądu elektrycznego o 10 A w powyżej opisanym przyrządzie kultura została tak zmienioną, że obecnie jeden cm^3 emulsji może być wewnątrz dany białej myszy i nie mniej, jak 5 cm^3 — śwince morskiej bez jakiegokolwiek chorobotwórczego działania na zwierzęta. Również i inne kultury wykazują to samo działanie prądu.

Bardzo podobnie zachowują się bacyle tuberkuliczne typus humanus i typus bovinus. Rozwinięta kultura bacylów tuberkulicznych zostaje również wypłukana z odżywki i w roztworze soli kuchennej poddana działaniu elektrycznego prądu stałego w przestrzeni środkowej przyrządu, składającego się z trzech komór. Kultura zostaje po dwóch godzinach oddziaływania prądu o 10 A tak dalece unicestwiona, że dalsze kultywowanie na sztucznym po-dłożu odżywcem nie udaje się. Gdy jed-

nak na emulsję elektryczny prąd oddziaływa tylko 1—1½ godziny, to może być osiągnięty znaczny rozrost bacylów tuberkulicznych, ale przy zaszczepieniu świnkom morskim bacyle te nie wywierają chorobotwórczego działania, t. j. one nie są w stanie wywoływać tuberkulozy u zwierząt. Świnki morskie, którym zaszczepiono znaczne dozy kultury po działaniu prądu, nawet po 6—8 tygodniach nie przejawiały żadnych zewnętrznych symptomatów tuberkulozy. W miejscach zaszczepienia nie można rozpoznać żadnych zmian. Sekcja zabitych zwierząt pokazała, że nie zaszły żadne patologiczne zmiany, wewnętrzne organy były zupełnie normalne.

W wielu wypadkach jest przeto korzystnem stosowanie do wytwarzania szczepionek drobnoustrojów, które były poddane działaniu prądu elektrycznego. Technika wytwarzania tych szczepionek, z natury rzeczy, pozostaje taka sama, jak poprzednio.

Zastrzeżenia patentowe.

1. Sposób zabijania drobnoustrojów zapomocą elektrycznego prądu, znamieny tem, że traktowany materiał poddany zostaje działaniu prądu elektrycznego pomiędzy odpowiedniami przeponami, przeważnie przy stosunkowo małym napięciu i wysokiej sile prądu.

2. Sposób według zastrz. 1, znamieny tem, że przestrzenie elektrodowe zostają chłodzone, np. przez stały prąd wody.

3. Sposób według zastrz. 1, znamieny tem, że siła prądu jest utrzymaną stałą przez stałą zawartość soli w otaczającym drobnoustroje ośrodku.

4. Zastosowanie sposobu według zastrz. 1, 2 albo 3 do wytwarzania właściwych szczepionek z czystych kultur drobnoustrojów, znamieny tem, że drobnoustroje zabija się zapomocą elektrycznego prądu stałego pomiędzy odpowiedniami przeponami i następnie przygotowuje się z nich w wiadomy sposób emulsję w soli kuchennej.

5. Zmiana sposobu według zastrz. 4, znamienna tem, że działa się prądem elektrycznym na drobnoustroje tylko w przeciągu takiego czasu, albo stosuje się prąd o tak małej sile, że drobnoustroje nie giną, natomiast pozbawione zostają chorobotwórczych własności, poczem z tych drobnoustrojów przygotowuje się w wiadomy sposób emulsję w roztworze soli kuchennej.

Elektro-Osmose,
Aktiengesellschaft
(Grafschwerin Gesellschaft).
Zastępca: M. Brokman,
rzecznik patentowy.