



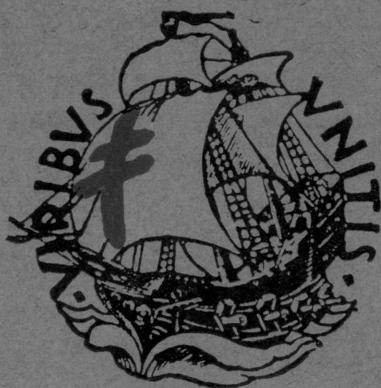
ISTITUTO «CARLO FORLANINI»
CLINICA DELLA TUBERCOLOSI E DELLE MALATTIE DELL'APPARATO RESPIRATORIO
DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA
Direttore: on. prof. E. MORELLI

G. LUZZATTO-FEGIZ
Primario e Docente

R. RIMINI
Assistente

Ricerche sul decorso della tubercolosi sperimentale nelle cavie trattate con alfa-dinitrofenolo

Estratto dalla Rivista "Lotta contro la Tuberculosis", Anno VII, n. 11 - Novembre 1936-XV



Lib
B
54
31

STABILIMENTO TIPOGRAFICO "EUROPA",
ROMA - VIA DELL'ANIMA, 45

G. LUZZATTO-FEGIZ
Primario e Docente

R. RIMINI
Assistente

Ricerche sul decorso della tubercolosi sperimentale nelle cavie trattate con alfa-dinitrofenolo

Estratto dalla Rivista "Lotta contro la Tuberculosis", Anno VII, n. 11 - Novembre 1936-XV



STABILIMENTO TIPOGRAFICO "EUROPA",
ROMA - VIA DELL'ANIMA, 45

La dimostrazione diretta del bacillo di Koch nei prodotti patologici di casi sospetti, urta spesso, come è ben noto, contro difficoltà notevoli, tanto che non di rado, riusciti negativi gli esami diretti si suole rinunziare ad ulteriori ricerche batteriologiche ammettendo od escludendo la natura dell'affezione in base ai dati clinici, anamnestici e radiologici. Ciò dipende dal fatto che la prova biologica, mediante la inoculazione in cavia e quella culturale, prove le quali spesso sono in grado di dimostrare la presenza dell'agente specifico laddove gli esami diretti avevano fallito, non sono ancora sufficientemente diffuse in pratica e non hanno trovato quella larga applicazione che la loro relativa semplicità di esecuzione giustificherebbe. Sarebbe soprattutto desiderabile che tali prove uscissero dai laboratori specializzati e dalle cliniche e fossero correntemente eseguite negli ospedali e nei sanatori. In un recente lavoro, basato sopra l'esame di 365 materiali patologici, DADDI, nel nostro Istituto ha dimostrato tutta la utilità dei metodi culturale e biologico in confronto della ricerca diretta del bacillo nei prodotti patologici contenenti scarso numero di bacilli.

L'importanza di queste prove è inoltre dimostrata da alcune recenti osservazioni dalle quali risulta la frequenza con cui il virus tubercolare è dimostrabile con tali mezzi in forme dell'apparato respiratorio fino ad oggi ritenute «chiuse», come le adenopatie tbc. dei bambini (ARMAND-DELILLE e VIBERT, SAYÈ e SHELTON, SCHYLLA), i pneumotoraci col collasso polmonare totale (NASTA, BLECHMANN, BACANU, GUALDI), mentre in pari tempo si è visto che esistono delle persone apparentemente indenni da tbc. sia all'esame clinico che a quello radiologico, le quali presentano saltuariamente una espettorazione contenente dei bacilli di Koch (BEZANÇON, BRAUN e MEYER, MEERSSELMANN).

Tanto il metodo culturale che quello biologico sono oggi per la semplicità della loro esecuzione alla portata di tutti; entrambi però, ed in particolare quello biologico, presentano l'inconveniente di richiedere un periodo di osservazione raramente inferiore ai trenta giorni quando si impieghino nella inoculazione o nella semina prodotti patologici pauci-bacillari.

Gli artifici di tecnica proposti da numerosi AA. per sensibilizzare le cavie ed accelerare lo sviluppo delle alterazioni specifiche, appaiono pertanto pienamente giustificate. Tali metodi consistono:

a) in particolari modalità di inoculazione del materiale sospetto o di ricerca dei bacilli nell'animale sacrificato (iniezione intra-epatica di Oppenheimer, sotto-durale di De Antoni, intra-cerebrale di Feldmann, intra-ganglionare di Ninni, ricerca del bacillo nella cistifellea secondo FORTUNATO);

- b) nello schiacciamento dei gangli inguinali (metodo di Bloch);
- c) in modificazioni artificiali del biochimismo dei tessuti (alterazione dell'equilibrio acido-basico secondo BALINT e WEIS);
- d) in modificazioni dell'equilibrio endocrino (iniezione di follicolina, insulina, ecc.);
- e) infine nella sensibilizzazione specifica della cavie mediante inoculazione di derivati chimici del bacillo (sostanze cero-grasse secondo BOUQUET e NÈGRE, estratto acetonicco secondo VALTIS e VAN DEINSE, tubercolina secondo TONIETTI e LUZZATTO-FEGIZ).

Con la presente nota desideriamo far conoscere i risultati di nuove indagini da noi condotte con l'intendimento di modificare l'equilibrio metabolico delle cavie e favorire in tal guisa l'attecchimento dell'infezione tubercolare e di accelerarne la diffusione. Partendo dal concetto che un notevole aumento del metabolismo basale avrebbe dovuto accelerare il diffondersi dell'infezione tubercolare nelle cavie, e ciò per analogia a quanto ci è noto dalla patologia umana, e dopo aver fatto dei tentativi infruttuosi con la tiroidina, abbiamo impiegato le iniezioni di alfa-dinitrofenolo, sostanza la quale mentre a forti dosi (60 mgr. per kg. di peso) determina delle imponenti ipertermie che conducono l'animale rapidamente a morte con un quadro simile a quello del colpo di calore, produce a dosi piccole (1-5 mgr. per kg.) un aumento del metabolismo che può raggiungere il 30-40 %.

Onde renderci conto dell'azione del a.d.f. sulle cavie, abbiamo iniettato a sette animali del peso medio di 300 gr., 5 mgr. della sostanza per kg. di peso a giorni alterni controllando il peso delle cavie e confrontandolo con quello di cinque animali controlli. Potemmo così notare che la diminuzione di peso negli animali del primo gruppo era pressochè costante e raggiungeva valori oscillanti tra il 10 e il 26 % del peso iniziale mentre nelle cavie di controllo la diminuzione di peso non era costante ed in media raggiungeva valori notevolmente inferiori a quelli delle cavie trattate con a.d.f.

Venti cavie furono quindi infettate con $\frac{1}{10000}$ mgr. di bacillo bovino Vallèe, per via sotto-cutanea: 10 animali vennero tenuti come controlli e gli altri sottoposti ad iniezioni trisettimanali di a.d.f. nella dose di 5 mgr. per kg. di peso. Gli animali del primo gruppo vennero sacrificati contemporaneamente ai controlli dopo un periodo di trattamento variabile dai 23 ai 151 giorni. Due cavie trattate e quattro controlli morirono rispettivamente al 14°, 17°, 36°, 41° e 73° giorno.

L'esame anatomico-patologico e gli strisci delle glandole eseguiti nelle cavie trattate con a.d.f. e nei controlli morti o sacrificati dopo uguale periodo di osservazione, dimostrarono in 3 coppie di animali una eguale estensione delle lesioni specifiche, in 4 una maggiore estensione del processo tubercolare ed una più intensa reazione glandolare con o senza caseificazione nelle cavie trattate con a.d.f. rispetto ai controlli; in un altro animale, sacrificato al 23° giorno dalla inoculazione si notavano adenopatie inguinali e lombo-sacrali molto più evidenti che nel controllo, inoltre noduli nella milza e reperto di bacilli negli strisci di glandole che mancava invece nel controllo. In 3 coppie di cavie sacrificate, rispettivamente morte al 14°, 36° e 73° giorno non vi erano differenze tra animali trattati e controlli. Da queste prime esperienze risultava dunque che in 6 su 10 animali il processo specifico era più avanzato e più diffuso che nei controlli; tale differenza era in alcune cavie nettissima. Ma poichè con la progressiva invasione tubercolare le differenze quantitative tra le singole cavie tendono a scomparire livellando anche la diversa età dell'infezione e la dose di bacilli inoculata, risultava l'oppo-

tunità di praticare un trattamento più intensivo con controlli autoptici fatti a breve distanza di tempo dalla inoculazione. Sottoponemmo pertanto altri 16 animali alla infezione con la stessa dose di bacilli bovini Vallè iniziando subito a 8 animali il trattamento con l'a.d.f. nella stessa dose ma a iniezioni quotidiane. Le cavie furono sacrificate a coppie dopo 10, 12, 14, 17, 24, 31, 40 e 52 giorni dalla inoculazione. In tutti gli animali trattati, ad eccezione di uno, l'esame anatomopatologico rivelava adenopatie più cospicue, lesioni di maggiore estensione e caseificazioni più evidenti che nei controlli. La costanza di questi risultati esclude la possibilità che cause fortuite, estranee al trattamento praticato, abbiano potuto influire sull'andamento dell'infezione tubercolare nelle cavie sottoposte alle iniezioni di a.d.f.

In un'ultima serie di esperienze furono inoculate delle cavie con due cc. di essudato pleurico proveniente da malati in cura di pneumotorace terapeutico; alcuni di questi versamenti vennero contemporaneamente seminati con l'abituale tecnica in terreno di PETRAGNANI.

Un primo gruppo di 14 cavie venne inoculato con campioni di versamenti pleurici provenienti da 7 malati diversi in modo che ogni campione di essudato venisse inoculato a due cavie di cui una era tenuta come controllo e l'altra sottoposta al solito trattamento con l'a.d.f. Altri 5 versamenti vennero iniettati a gruppi di 4 cavie per ciascuno due delle quali servivano per controllo e due venivano sottoposte all'iniezione di a.d.f.

Complessivamente sopra 17 coppie di animali inoculati, in 4 non si ebbe sviluppo di germi nè alla prova biologica nè a quella culturale, in sei coppie non vi fu differenza fra controlli ed animali trattati, sei volte vi fu una nettissima prevalenza delle lesioni per gravità ed estensione negli animali trattati, mentre in una sola coppia le lesioni specifiche erano più avanzate nel controllo.

Confrontando i risultati di queste esperienze con quelle del 2° gruppo si rileva subito come alla prova con i campioni di essudati i risultati siano meno appariscenti che negli animali infettati con sospensione di bacilli, nei quali sopra 16 animali trattati con a.d.f., 13 presentavano lesioni più avanzate dei controlli, mentre nel gruppo degli animali infettati con gli essudati pleurici, si potè rilevare soltanto sei volte su 17 coppie di cavie una netta prevalenza delle lesioni negli animali trattati. Questi risultati fanno pensare che l'infezione che si ottiene con l'inoculazione di piccole quantità di versamento non corrisponda del tutto a quella che consegue alla iniezione di sospensioni bacillari preventivamente pesate, nel senso che sia più facile avere nel primo caso diversità nella estensione e gravità delle lesioni dovute verosimilmente al fatto che nell'inoculazione di campioni di versamenti pleurici, che sono in genere pauci-bacillari, è più facile che la differenza quantitativa dei germi iniettati sia proporzionalmente molto superiore a quella che può aversi iniettando patina bacillare in sospensione, contenente sempre dosi enormi di bacilli. In questo caso una differenza numerica dei bacilli per se stessa anche alta, non avrà per conseguenza diversità sensibili nella entità della infezione poiché, in proporzione al numero totale dei germi iniettati, tali differenze possono considerarsi trascurabili.

Va inoltre notato che nel gruppo degli animali in cui si ottenne con l'a.d.f. un acceleramento del processo specifico, le cavie erano state sacrificate o erano morte spontaneamente entro 20 giorni. In due casi infatti la prova biologica risultò positiva rispettivamente già all'ottavo, al nono giorno mentre i controlli uccisi contemporaneamente non presentavano alcuna alterazione patologica. Gli altri casi di questo gruppo riguardano animali sacrificati al 10°, 16°, 19° e 20° giorno. Per contro le coppie di animali che non presentavano differenze nella gravità delle lesioni rispetto ai controlli, erano stati sacri-

ficati dopo un periodo medio maggiore e precisamente 15 giorni in un caso, 17 in un altro, 19 in due casi, 26 in due casi e 36 in un altro.

Pertanto le differenze fra animali sottoposti al trattamento con a.d.f. e rispettivi controlli, appaiono più evidenti entro i 15 giorni che seguono alla inoculazione per poi sfumare col progressivo estendersi dell'infezione tubercolare.

Per quanto concerne i risultati comparativi con la semina in terreno di Petraghani che fu eseguita in 9 casi, abbiamo notato in un caso la cultura e la prova biologica negative, in un altro caso cultura negativa e prova biologica positiva, in un terzo cultura positiva e prova biologica negativa, negli altri casi entrambe le prove furono positive. Quattro volte la prova biologica delle cavie trattate con a.d.f. diede una risposta più precoce della prova culturale con un anticipo rispettivamente di 5, 5, 14 e 23 giorni; due volte la semina in terreno di Petraghani diede esito positivo più precocemente della prova biologica con un anticipo di 2 e rispettivamente 10 giorni.

Riassumendo i risultati dei vari gruppi di esperienze troviamo che sopra 28 cavie trattate con a.d.f. e che presentavano un reperto autoptico positivo, 19, cioè il 67,8% avevano lesioni più avanzate, 8 cioè il 28,6% lesioni uguali e 1 cioè il 3,6% lesioni meno gravi dei rispettivi controlli. Questi dati dimostrano gli indiscutibili vantaggi pratici del metodo da noi sperimentato.

Poche parole sulle modalità di azione sull'a.d.f. negli animali infettati di tubercolosi. Abbiamo visto come questa sostanza determini un aumento del metabolismo basale dipendente da una accelerazione dei processi di combustione; un aumento della temperatura corporea, aumento del ricambio glucidico ed infine determini la comparsa di processi degenerativi a carico del fegato e dei reni. Di queste azioni quella che dovrebbe avere maggior importanza per spiegare i risultati ottenuti nelle nostre esperienze, è l'aumento del metabolismo basale. Infatti con le dosi da noi impiegate non si verificano nè fenomeni di ipertermia nè alterazioni degenerative viscerali, ma solo un cospicuo aumento del M. B. esponente di una accelerazione dei processi di combustione e che si traduce negli animali e nell'uomo con una rapida caduta della curva ponderale. E' noto come la infezione tubercolare tenda a diffondersi più rapidamente in un organismo in cui per deficiente nutrizione o per alterazioni dell'equilibrio metabolico si verifichi una progressiva perdita del peso corporeo. L'osservazione clinica sul vivente, più che i dati sperimentali derivanti dalla osservazione sul decorso della tubercolosi negli animali sottoposti ad inanizione, ha ormai sancito il valore di questi fattori nella rottura dell'equilibrio organico verso il quale le forze difensive umorali e istogene tendono e che noi cerchiamo con i nostri mezzi terapeutici di mantenere e di rafforzare.

BIBLIOGRAFIA

- ARMAND-DELILLE e VIBERT: « La Presse Médicale », 1927, pag. 402.
 BESANÇON F., BRAUN P. et MEYER A.: « La Presse Médicale », 1934, n. 97.
 BOQUET et NÈGRE: « C. R. Acad. des Sciences », 1925, n. 3.
 DADDI G.: « Lotta contro la tbc. », a. VI, n. 6, 1935.
 FORTUNATO: « Riv. di Bioter. e Immunol. », 1934.
 GUALDI A.: « Lotta contro la Tbc. », a. V, n. 1, 1934.
 MEERSERMANN F.: « La Presse Médicale », n. 18, 1935.
 MENEGHETTI: « La Med. Internaz. Illus. », I, 1935.
 NASTA M., BLECHMANN M. et BACANU C.: « La Presse Médicale », n. 97, 1934.
 NÈGRE, VALTIS, VAN DENIS et BELLENS: « La Presse Médicale », dicembre 1933.
 NEPPI: « Terapia », XII, 1935.
 SAYÈ, SHELTON et ALSINA: « La Presse Médicale », n. 8, 1934.
 SCHYLLA D.: « Monatschrift f. Kinderheilk. », Vol. 58^o, F. 3, 1933.
 TONETTI e LUZZATTO-FEGIZ: « Lotta contro la Tbc. », XI, 1933.
 VALTIS et VAN DENISE: « C. R. de la Soc. de Biolog. », 7, CXVIII,

55569

31.1.23





