

DOTT. PIO RITOSSA

**Osservazioni sperimentali sull'azione reciproca
tra tossina difterica ed eritrociti umani**

Estratto dagli Atti del XLII Congresso
della Società Italiana di Medicina Interna
(Roma, Ottobre 1936-XIV)

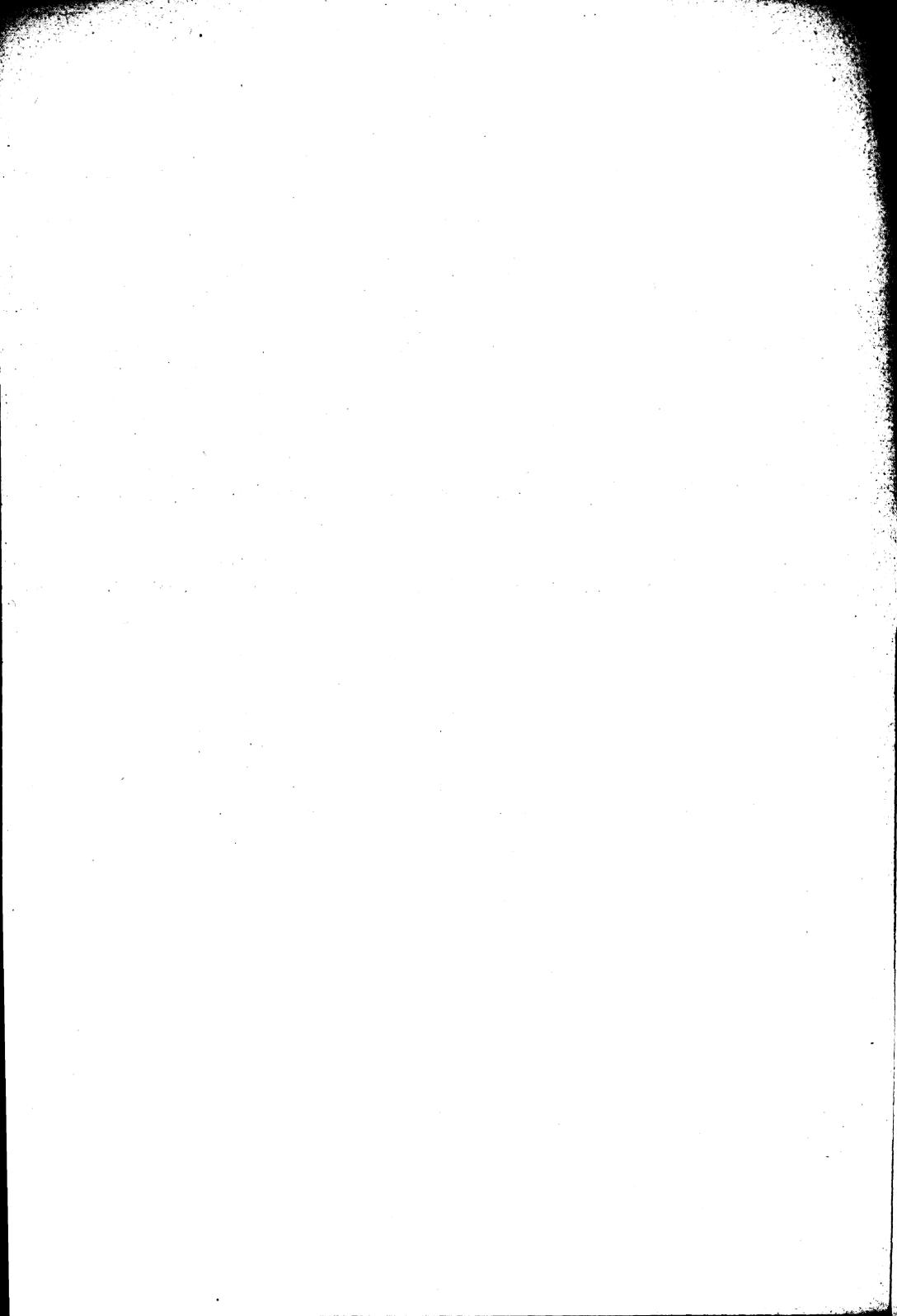


ROMA

CASA EDITRICE LUIGI POZZI

1937

Handwritten notes:
A
B
56
—
25



Osservazioni sperimentali sull'azione reciproca tra tossina difterica ed eritrociti umani.

Dott. Pio RITOSSA.

In un lavoro precedentemente condotto sull'azione reciproca tra tossina difterica e leucociti umani (*Annali d'Igiene*, fasc. 4, 1935) avevo potuto constatare che questi due elementi, tenuti a contatto « in vitro » per alcune ore, svolgevano un'azione dannosa vicendevole: mentre cioè da un lato la tossina esplicava un'azione tossica sui leucociti che portava ad una lisi di una parte di essi, d'altra parte i leucociti agivano su piccole dosi di tossina modificandola ed annullandone il potere tossico.

Mi sono proposto in questa seconda serie di ricerche di studiare l'azione reciproca svolta « in vitro » fra tossina difterica, rispettivamente bacilli difterici ed eritrociti umani, onde stabilire se da un lato la tossina e rispettivamente i bacilli esplicassero sulle emazie un'azione litica, e d'altra parte se le emazie possedessero un'azione assorbente o neutralizzante verso la tossina difterica. In genere si tende ad ascrivere al bacillo difterico ed ai suoi prodotti tossici un certo potere emolitico, senza però che, a mio sapere, sieno state praticate ricerche sistematiche « in vitro » su tale proprietà emolitica. D'altra parte, per quanto riguarda l'eventuale potere dei globuli rossi di assorbire o fissare la tossina difterica, esistono solo scarse ricerche su eritrociti di origine animale e conducenti a risultati contraddittori. Così SBARSKY e quasi contemporaneamente GLUSMANN constatarono che gli eritrociti del ratto, refrattario all'azione della tossina difterica, non possedevano un'azione assorbente su di essa; questi autori però ammettevano che i globuli rossi di altri animali possedessero un tale potere e che a questo fosse principalmente legata l'azione tossica esplicata dalla tossina sui relativi animali. Anche DUJARRIC DE LA RIVIÈRE e KOSSOWITZSCH ritennero che i globuli rossi di coniglio potessero assorbire la tossina difterica. Invece secondo SCHMIDT e SCHMIDT e STOCKHUSEN gli eritrociti non hanno il potere di legare la tossina difterica.

Le ricerche da me condotte vertono sui due seguenti quesiti:

1) *Esplcano i bacilli difterici o la tossina difterica un'azione emolitica sulle emazie umane?*

Le ricerche vennero eseguite impiegando la seguente tecnica:

Da individui sani venivano prelevati 30-40 cmc. di sangue; questo veniva defibrinato e centrifugato a lungo; allontanata la parte liquida e lo strato superiore costituito da leucociti, si raccoglievano le emazie che venivano lavate ripetutamente in soluzione fisiologica onde allontanare il più possibile ogni

traccia di siero. Le emazie venivano poi usate per le prove dell'emolisi in sospensione in soluzione fisiologica al 5%. In diversi tubicini si metteva in contatto 0,5 cmc. della sospensione di emazie con dosi progressive di tossina (da 0,20 a 1 cmc. corrispondenti a 10-50 d. m. m.), oppure con dosi crescenti di emulsione bacillare (1 ansata in 1 cmc., e di questa da 0,20 a 1 cmc.). Ai tubicini si aggiungeva o no il complemento (0,10 di siero fresco di cavia); in alcune esperienze si aggiunse pure l'antitossina difterica (0,25-0,50 di siero a 200 U. i. per cmc.).

Numerose esperienze praticate con diversi dosaggi dei singoli componenti, coi relativi controlli del complemento e del siero, e nelle diverse condizioni sopra accennate (con e senza aggiunta di complemento, con e senza aggiunta di antitossina) ci permettono di dedurre i seguenti risultati: I bacilli difterici, tenuti a contatto per 6-8 ore in termostato a 37° con eritrociti umani provocano una leggera emolisi in presenza di complemento; l'emolisi però non è mai completa, ma soltanto parziale; essa è indicata dalla tinta rossa presentata dalla colonna liquida superiore, che manca in assenza del complemento e nei controlli; al fondo dei tubicini però residuano delle emazie indisciolte.

La tossina difterica, tenuta a contatto per 6-8 ore a 37° con le emazie umane provoca dei pari emolisi (lieve ed incompleta come per i bacilli) in presenza di complemento. In assenza di complemento è quasi del tutto nulla l'azione emolitica. Per dosi maggiori di tossina l'azione emolitica risulta più evidente.

In conclusione ho constatato che sia i bacilli difterici come tali, sia la tossina pura esplicano sugli eritrociti umani un'azione emolitica, però lieve e parziale. Perchè questa avvenga è necessaria l'aggiunta di complemento. L'azione emolitica è più spiccata con l'uso della tossina che con quello dei bacilli, ed anche in quest'ultimo caso è legata quindi alla tossina prodotta dai bacilli.

Le forti dosi di tossina impiegate nell'esperimento per produrre un'emolisi parziale su piccole quantità di emazie non permettono però di riportare sull'ammalato nelle condizioni naturali dell'infezione i risultati ottenuti « in vitro ».

Ho constatato inoltre nelle prove in cui aggiungevo il siero antidifterico che l'aggiunta contemporanea di antitossina in presenza o no di complemento attenua o annulla del tutto l'azione emolitica dei bacilli e della tossina. Ciò conferma che l'azione emolitica è esplicita dalla tossina la quale viene subito neutralizzata dal siero in eccesso quando si usa tossina pura, oppure viene neutralizzata mano mano che si forma quando s'impiegano i bacilli.

2) *Explicano gli eritrociti umani un'azione assorbente o neutralizzante sulla tossina difterica?*

Per risolvere questo secondo quesito ho seguito il seguente metodo:

Gli eritrociti umani, ottenuti secondo la tecnica sopradescritta ed accuratamente lavati, sospesi a parti uguali in soluzione fisiologica, venivano distribuiti in dose di 2 cmc. in una serie di tubicini; in ciascuno di questi si aggiungeva poi 1 cmc. di tossina difterica diluita in modo da contenere rispettivamente 1, 2, 3, 4, 5, 6 d. m. m. I tubicini, ben tappati, venivano mescolati e conservati in termostato per 6, 8, 12 ore. Dopo questo periodo di contatto la miscela eritrociti-tossina veniva inoculata in toto nelle cavie; oppure i tubicini venivano centrifugati onde separare scrupolosamente il liquido dalle emazie, e questi venivano inoculati separatamente in vari lotti di cavie, dal peso di 250 gr. Furono eseguite numerose prove dopo 6-8-12 ore di contatto a 37°. Va rilevato che, dato le minime dosi di tossina impiegata e dato l'assenza di complemento, i globuli rossi impiegati si mantenevano integri anche dopo 12 ore di soggiorno in termostato.

Tutte le cavie inoculate con le miscele eritrociti-tossina dopo il contatto a 37° per 6 rispettivamente 8 e 12 ore vennero costantemente a morte, tutte en-

tro il quinto giorno, ma dopo un periodo di tempo vario in corrispondenza alla dose della tossina impiegata. Tale fatto dimostrava che dopo il contatto nella miscela tossina-eritrociti persisteva il potere tossico; che cioè la tossina non era distrutta.

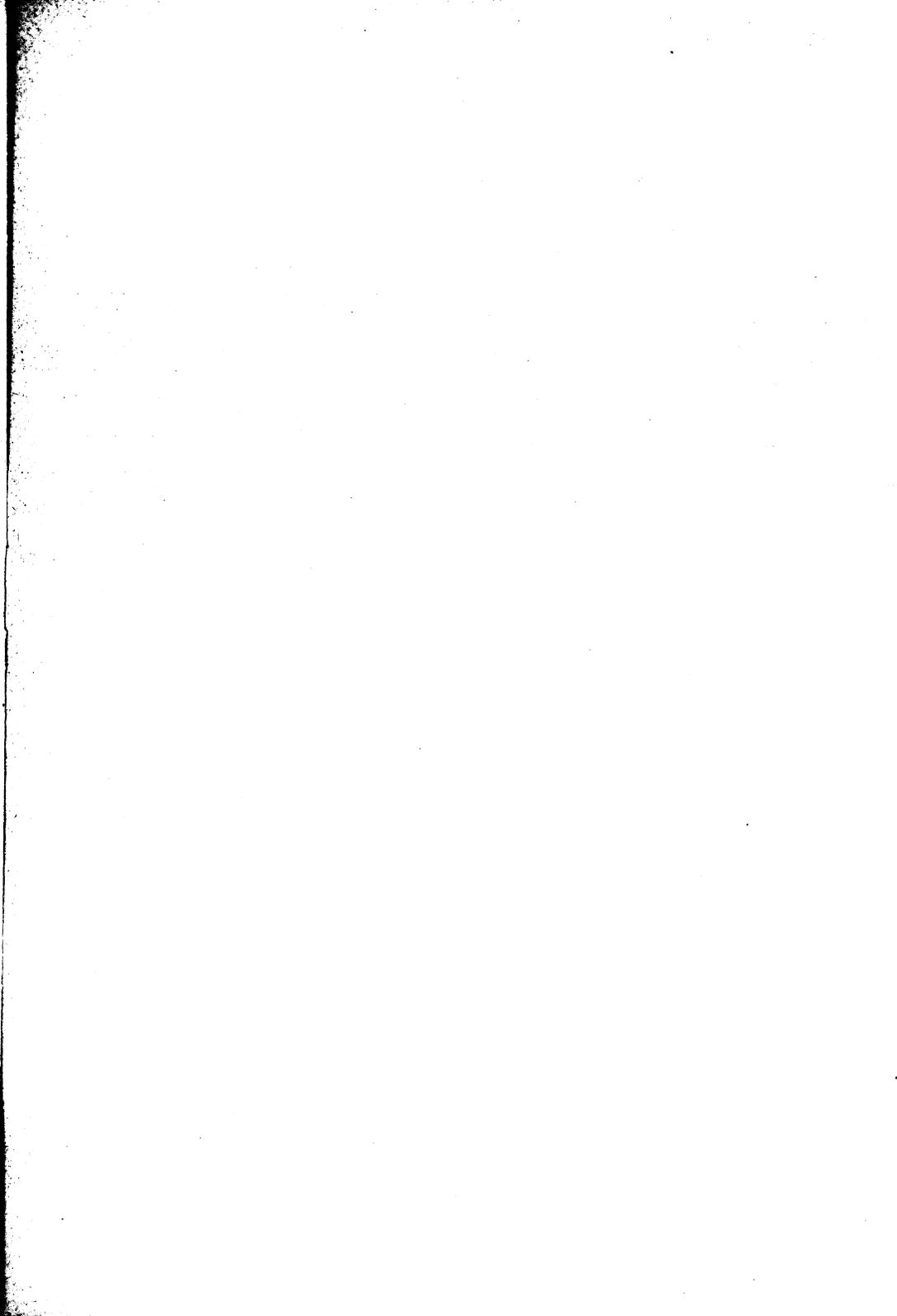
Inoculando separatamente la parte liquida della miscela e la parte corpuscolata in gruppi diversi di cavie, potei constatare che mentre l'inoculazione degli eritrociti dopo il contatto con la tossina non provocava alcun disturbo nelle cavie, l'inoculazione invece della parte liquida portava costantemente a morte tutti gli animali in periodi di tempo più o meno brevi ed in perfetta rispondenza con i controlli, trattati con le rispettive dosi di tossina diluita senza eritrociti. Risultava da queste esperienze che il potere tossico della tossina difterica persisteva intatto nella parte liquida, che cioè la tossina non veniva nè distrutta nè fissata dagli eritrociti umani, dopo il contatto più o meno protratto con questi.

Si deduce da queste ricerche che i rapporti fra bacilli o tossina difterica ed eritrociti umani, mescolati « in vitro », sono diversi da quelli, da me già studiati, fra tossina difterica e leucociti. Gli eritrociti restano del tutto passivi verso la tossina difterica che non fissano nè neutralizzano. La tossina difterica a sua volta può danneggiare i globuli rossi provocando l'emolisi come dimostra l'esperimento; ma un'emolisi lieve e parziale che si svolge su pochi eritrociti sotto l'azione di forti dosi di tossina o in presenza di complemento; cosicchè, rapportando l'esperimento a quanto può avvenire nell'organismo umano infetto, dobbiamo ritenere l'azione emolitica della tossina difterica pressochè insignificante.

53460



~~318230~~



“IL POLICLINICO,”

PERIODICO DI MEDICINA, CHIRURGIA E IGIENE

fondato nel 1893 da Guido Baccelli e Francesco Durante
diretto dai proff. CESARE FRUGONI e ROBERTO ALESSANDRI

Collaboratori: Clinici, Professori e Dottori italiani e stranieri

Si pubblica a ROMA in tre sezioni distinte:

Medica - Chirurgica - Pratica

IL POLICLINICO

nella sua parte originale (Archivi) pubblica i lavori dei più distinti clinici e cultori delle scienze mediche, riccamente illustrati, sicchè i lettori vi troveranno il riflesso di tutta l'attività italiana nel campo della medicina, della chirurgia e dell'igiene.

LA SEZIONE PRATICA

che per sè stessa costituisce un periodico completo, contiene lavori originali d'indole pratica, note di medicina scientifica, note preventive, e tiene i lettori al corrente di tutto il movimento delle discipline mediche in Italia e all'estero. Pubblica accurate riviste in ogni ramo delle discipline suddette, occupandosi soprattutto di ciò che riguarda l'applicazione pratica. Tali riviste sono redatte da studiosi specializzati.

Non trascura di tenere informati i lettori sulle scoperte ed applicazioni nuove, sui rimedi nuovi e nuovi metodi di cura, sui nuovi strumenti, ecc. Contiene anche un ricettario con le migliori e più recenti formule.

Pubblica brevi ma sufficienti relazioni delle sedute di Accademie, Società e Congressi di Medicina, e di quanto si viene operando nei principali centri scientifici.

Contiene accurate recensioni dei libri editi recentemente in Italia e fuori. Fa posto alla legislazione e alla politica sanitaria e alle disposizioni sanitarie emanate dal Ministero dell'Interno, nonchè ad una scelta e accurata Giurisprudenza riguardante l'esercizio professionale.

Prospetta i problemi d'interesse corporativistico e professionale e tutela efficacemente la classe medica.

Reca tutte le notizie che possono interessare il ceto medico: Promozioni, Nomine, Concorsi, Esami, Cronaca varia, dell'Italia e dell'Estero.

Tiene corrispondenza con tutti quegli abbonati che si rivolgono al « Policlino » per questioni d'interesse scientifico, pratico e professionale.

A questo scopo dedica rubriche speciali e fornisce tutte quelle informazioni e notizie che gli vengono richieste.

LE TRE SEZIONI DEL POLICLINICO

per gli importanti lavori originali, per le copiose e svariate riviste, per le numerose rubriche d'interesse pratico e professionale, sono i giornali di medicina e chirurgia più completi e meglio rispondenti alle esigenze dei tempi moderni.

ABBONAMENTI ANNUI PER IL 1933

	Italia	Estero
Singoli:		
1) Alla sola sezione pratica (settimanale)	L. 55.50	L. 100
1-a) Alla sola sezione medica (mensile)	» 50 —	» 60
1-b) Alla sola sezione chirurgica (mensile)	» 50 —	» 60
Completivi:		
2) Alle due sezioni (pratica e medica)	» 100 —	» 150
3) Alle due sezioni (pratica e chirurgica)	» 100 —	» 150
4) Alle tre sezioni (pratica, medica e chirurgica)	» 125 —	» 180
Un numero della sezione medica e chirurgica L. 6, della pratica L. 3.50		

Il Policlino si pubblica sei volte al mese.

La Sezione medica e la sezione chirurgica si pubblicano ciascuna in fascicoli mensili illustrati di 48-64 pagine ed oltre, che in fine d'anno formano due distinti volumi.

La sezione pratica si pubblica una volta la settimana in fascicoli di 28-36-48 pagine, oltre la copertina.

► Gli abbonamenti hanno unica decorrenza dal 1° di gennaio di ogni anno. ◀
L'abbonamento non disdetto prima del 1° Dicembre, si intende confermato per l'anno successivo.

Indirizzare Vaglia postale, Chèques e Vaglia Bancari all'Editore del « Policlino », LUIGI POZZI

UFFICI DI REDAZIONE E AMMINISTRAZIONE: Via Sicilia, 14 — ROMA (Telefono 42-300)