



ISTITUTO «CARLO FORLANINI»  
CLINICA FISIOLÓGICA DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA  
DIRETTORE: PROF. E. MORELLI

---

G. DADDI e C. PANÀ

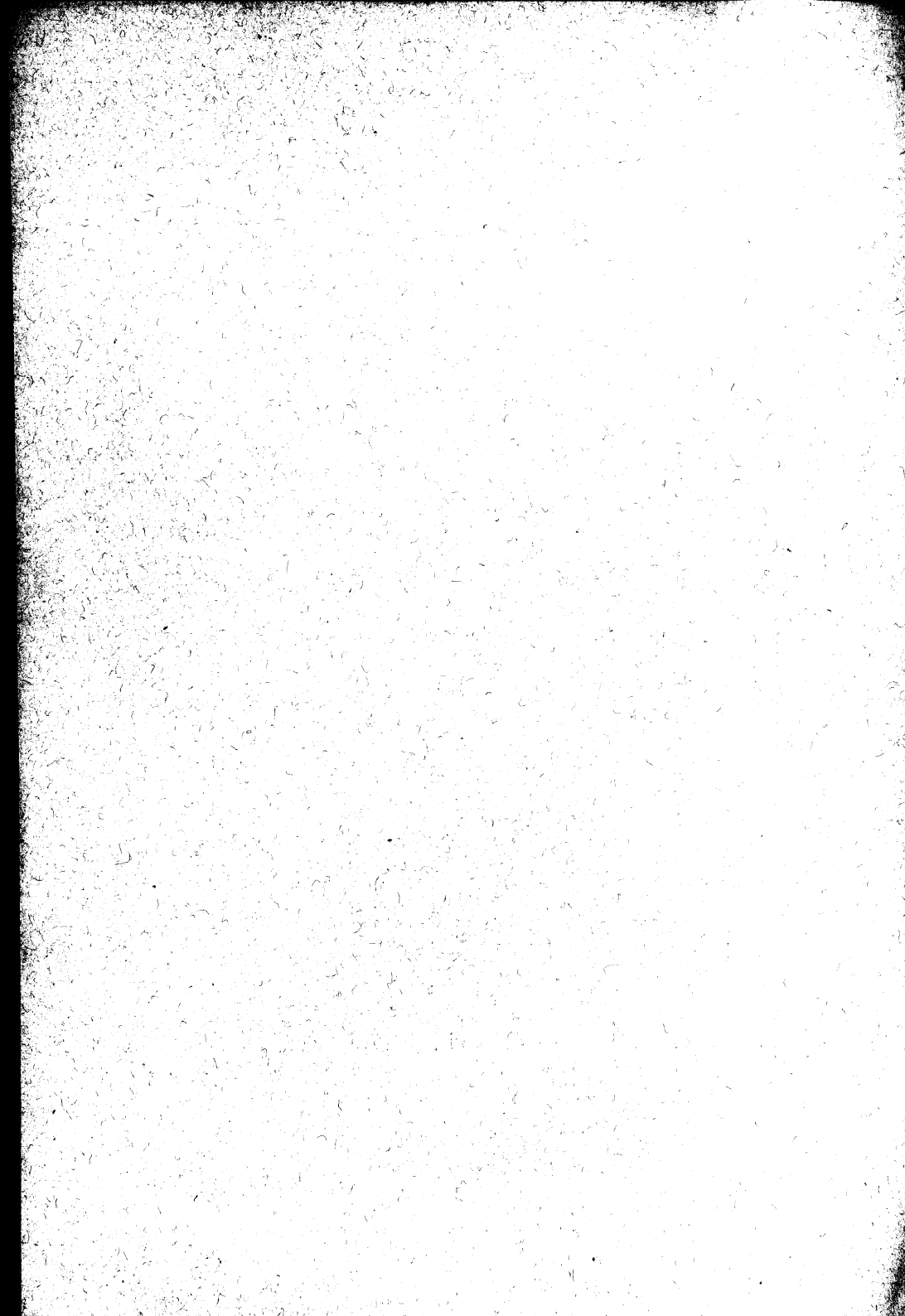
**STRUTTURA ED EVOLUZIONE DELLE REAZIONI CUTA-  
NEE DA PROTEINE E POLISACCARIDI DEL CORPO E  
DEL TERRENO DI COLTURA DEL BACILLO DI KOCH**

*Estratto da ANNALI DELL'ISTITUTO «CARLO FORLANINI»*  
Anno IV N. 11-12 Pag. 809-821



ROMA  
TIPOGRAFIA OPERAIA ROMANA  
Via Emilio Morotini, 27

1940-XIX



## STRUTTURA ED EVOLUZIONE DELLE REAZIONI CUTANEE DA PROTEINE E POLISACCARIDI DEL CORPO E DEL TERRENO DI COLTURA DEL BACILLO DI KOCH.

GIUSEPPE DADDI e CARLO PANÀ

In precedenti indagini da noi già riferite (1) potemmo osservare che le reazioni cutanee suscitate nell'uomo tubercoloso dall'iniezione intradermica di polisaccaridi estratti dal terreno di coltura del bacillo di Koch erano più precoci e meno durature delle reazioni alle sostanze proteiche estratte dal medesimo terreno; osservammo inoltre che non esisteva alcun parallelismo nel grado delle reazioni provocate rispettivamente da queste due frazioni.

Onde meglio conoscere e seguire nelle sue fasi tali diverse reattività, che confermano le differenti proprietà biologiche di questi due importanti prodotti del bacillo di Koch, abbiamo voluto studiare il loro aspetto macro e microscopico nella cute e nel testicolo delle cavie tubercolose.

Per rendere più complete le nostre prove abbiamo saggiato contemporaneamente anche il potere cutireattivo delle proteine e dei polisaccaridi isolati dal corpo dei bacilli di Koch, sviluppati nei terreni dai quali erano state estratte le altre due frazioni. Tutte queste frazioni erano state isolate nel laboratorio di chimica del nostro Istituto da CATTANEO secondo il metodo da lui descritto (2).

Le nostre esperienze sono state eseguite su 38 cavie maschi che furono infettate contemporaneamente sottocute con 1/100 di mgr. del ceppo Vallée. Ad un mese di distanza tutti gli animali reagivano positivamente all'intra-dermoreazione coll'anatubercolina integrale di PETRAGNANI e trascorsi altri dieci giorni li dividemmo in due gruppi, l'uno per le prove intradermiche, l'altro per quelle intratesticolari.

### PROVE INTRADERMICHE.

In venti cavie, depilate sui due fianchi, iniettammo:

al fianco destro anteriormente mg. 1 di proteina del terreno di coltura del ceppo Vallée, in ccm. 0,10 di sol. fisiol.;

al fianco destro posteriormente mg. 1 di proteina del corpo bacillare del ceppo Vallée, in ccm. 0,10 di sol. fisiol.;

al fianco sinistro anteriormente mg. 1 di polisaccaride del terreno di coltura del ceppo Vallée, in ccm. 0,10 di sol. fisiol.;

al fianco sinistro posteriormente mg. 1 di polisaccaride corpo bacillare del ceppo Vallée, in cm. 0,10 di sol. fisiol..

(1) G. DADDI e C. PANÀ. — « Annali Forlanini », n. 7-8, 1939. idem., n. 11-12, 1939.

(2) C. CATTANEO. — « Annali Forlanini », v. 1, 1937.

TABELLA I.

*Intradermoreazioni macroscopiche.*

| Cavia | Lato  | Lettura a 12 ore |     | Lettura a 24 ore |      | Lettura a 48 ore |        | Animale ucciso |
|-------|-------|------------------|-----|------------------|------|------------------|--------|----------------|
|       |       | S.               | D.  | S.               | D.   | S.               | D.     |                |
| 1     | Ant.  | ++               | +++ | —                | —    | —                | —      | a 12 ore.      |
|       | Post. | +                | +++ |                  |      |                  |        |                |
| 2     | Ant.  | +++              | +++ | —                | —    | —                | —      | id.            |
|       | Post. | ++               | ++  |                  |      |                  |        |                |
| 3     | Ant.  | + -              | +   | —                | —    | —                | —      | id.            |
|       | Post. | - +              | - + |                  |      |                  |        |                |
| 4     | Ant.  | +++              | +   | +++              | +++  | —                | —      | a 24 ore.      |
|       | Post. | +                | +   | +                | ++   |                  |        |                |
| 5     | Ant.  | +                | ++  | +                | ++   | —                | —      | id.            |
|       | Post. | +                | +   | +                | +    |                  |        |                |
| 6     | Ant.  | —                | ++  | - +              | +++  | —                | —      | id.            |
|       | Post. | —                | ++  | - +              | +++  |                  |        |                |
| 7     | Ant.  | —                | +   | +                | ++   | +                | +++    | a 48 ore.      |
|       | Post. | —                | +   | —                | +++  | +                | +++    |                |
| 8     | Ant.  | —                | +   | —                | ++   | —                | +++    | id.            |
|       | Post. | —                | +   | —                | +    | —                | +      |                |
| 9     | Ant.  | +                | ++  | ++               | +++  | ++               | +++    | id.            |
|       | Post. | +                | ++  | +                | ++   | +                | ++     |                |
| 10    | Ant.  | - +              | +++ | ++               | ++++ | ++               | ++++   | a 72 ore.      |
|       | Post. | +                | +++ | +                | ++++ | +                | ++++   |                |
| 11    | Ant.  | —                | —   | ++               | ++   | ++               | +++    | id.            |
|       | Post. | —                | —   | - +              | ++   | —                | +      |                |
| 12    | Ant.  | + -              | ++  | +++              | +++  | ++               | +++    | id.            |
|       | Post. | —                | ++  | —                | ++   | —                | +      |                |
| 13    | Ant.  | +++              | ++  | +++              | ++++ | ++               | ++++   | a 96 ore.      |
|       | Post. | +                | ++  | +                | ++++ | +                | ++++   |                |
| 14    | Ant.  | +                | ++  | ++               | +++  | ++               | ++++   | id.            |
|       | Post. | —                | +   | —                | —    | —                | —      |                |
| 15    | Ant.  | +                | ++  | ++               | +++  | ++               | ++++   | id.            |
|       | Post. | —                | +   | —                | —    | —                | —      |                |
| 16    | Ant.  | +                | ++  | +                | +++  | +                | +++    | a 7 giorni.    |
|       | Post. | - +              | +   | - +              | +    | +                | +      |                |
| 17    | Ant.  | +                | ++  | +                | +++  | +                | +++    | id.            |
|       | Post. | —                | +   | - +              | ++   | —                | +      |                |
| 18    | Ant.  | ++               | +++ | ++               | ++++ | +                | ulcera | id.            |
|       | Post. | —                | +   | - +              | ++   | +                | +      |                |
| 19    | Ant.  | ++               | +++ | ++               | ++++ | +                | ulcera | id.            |
|       | Post. | —                | ++  | —                | ++   | —                | +      |                |
| 20    | Ant.  | +++              | +++ | +++              | ++++ | ++               | ulcera | id.            |
|       | Post. | +                | +++ | +                | ++   | +                | ++     |                |

Come risulta dalla tabella I, gli animali furono uccisi in gruppi di 3 in tempi successivi, dopo avere controllato le reazioni macroscopiche al punto delle singole iniezioni intradermiche.

Dall'esame dei risultati appare evidente che le cavie hanno reagito diversamente alle varie frazioni iniettate. I fenomeni locali più forti e più persistenti si sono verificati con la proteina del terreno, (M. D. C. terr.), che in alcuni animali ha prodotto anche una reazione necrotica; per intensità vengono dopo le reazioni alle proteine del corpo bacillare (Prot. c. b. V.); poi con poca differenza i polisaccaridi del terreno (Polis. V. t.). Le reazioni al polisaccaride del corpo bacillare (Polis. c. b. V.), solo in qualche cavia persistevano alle 48 ore e anche in queste furono sempre molto modeste.

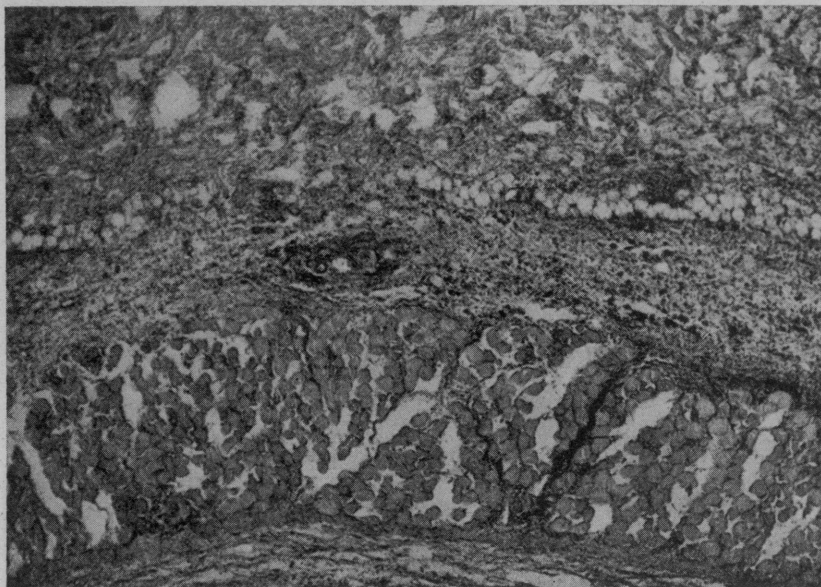


Fig. 1. — Cavia n. 2.

Veduta di insieme della reazione essudativa alle M. D. C. terr.  
a 12 ore dalla inoculazione.

Considerando il corso dei fenomeni locali vediamo che, mentre le proteine, specialmente quelle del terreno, danno reazioni progressivamente più intense fino 48 ore ed oltre, le reazioni al polisaccaride del terreno mostrano un'evidente tendenza a diminuire d'intensità già dopo le 24 ore. Tale regressione non è tuttavia così rapida e completa come quella che abbiamo potuto osservare nelle nostre precedenti ricerche in molti malati di tubercolosi: crediamo che ciò debba essere in rapporto col fatto che mentre nell'uomo abbiamo iniettato dosi reattive al margine della sensibilità, nelle cavie invece abbiamo usato dosi molto forti, onde ottenere con certezza reazioni cutanee. In questo modo, nella risposta locale all'antigene iniettato non può fare a meno di partecipare anche la reazione vascolare e cellulare irritativa provocata dalla forte dose; come vedremo il reperto istologico convalida questa nostra opinione.

Gli esami istologici hanno confermato nello stesso ordine la diversa potenza cutireattiva delle frazioni tubercolari esaminate. In primo luogo, deve essere notata una corrispondenza assoluta tra i reperti macroscopici e microscopici per quanto riguarda l'esistenza e l'entità delle reazioni: microscopi-

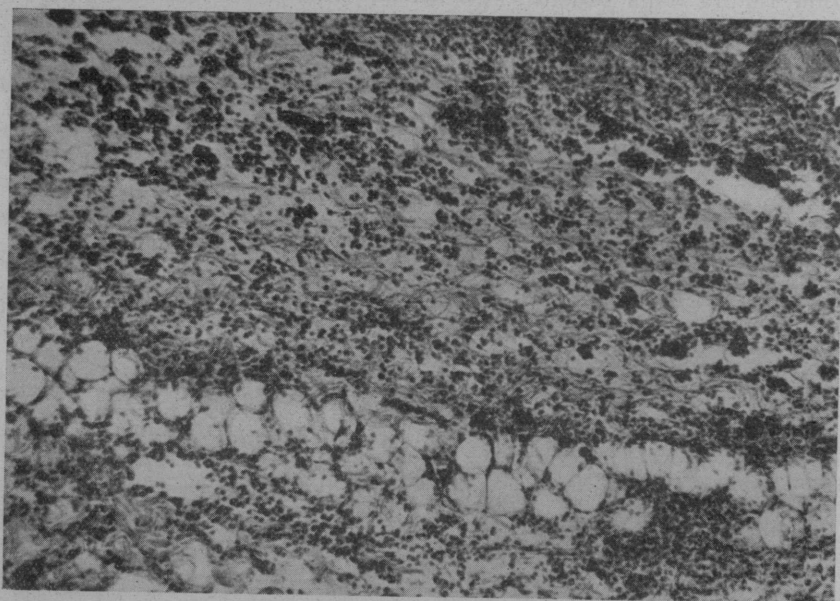


Fig. 2. — Cavia n. 2.  
Violenta essudazione leucocitaria nel derma.

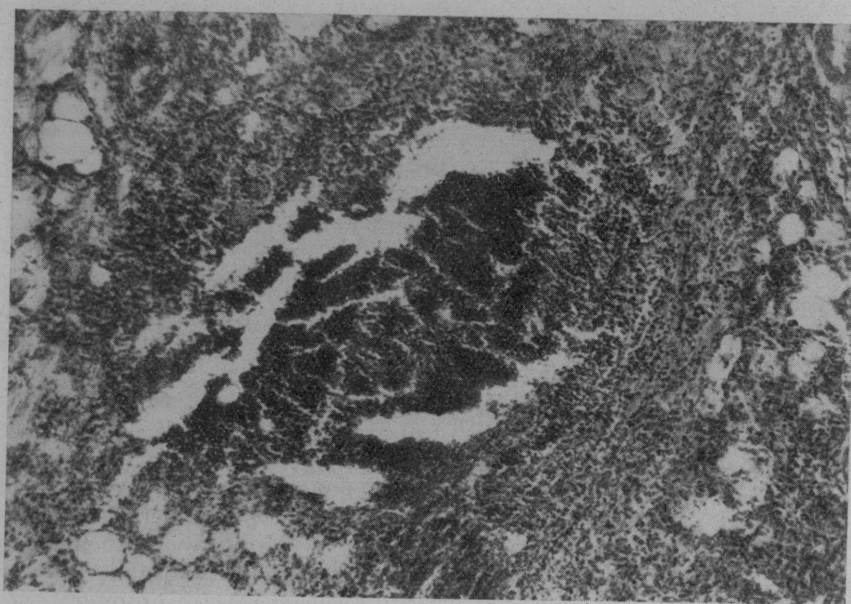


Fig. 3. — Cavia n. 9.  
Raccolta ascessuale (non ulcerata) a 48 ore dalla inoculazione di M. D. C. terr.

camente, tuttavia, si osserva la presenza di piccoli e scarsi infiltrati perivasculari anche nei casi negativi all'esame esterno. L'aspetto istologico delle reazioni positive alle frazioni proteiche è quello ben noto delle reazioni tubercoliniche. Dobbiamo accennare però, che le proteine del terreno provocano immediatamente una violenta e diffusa essudazione leucocitaria che in qualche caso, nel punto di maggiore intensità, dopo 24 ore si raccoglie e viene circonscritta da una zona di proliferazione fibro-istiocitaria. Contemporaneamente, ha luogo negli strati inferiori del derma una forte essudazione plasmatica che dissocia i singoli fasci di tessuto fibroso. Tale fenomeno è caratteristico delle reazioni allergico-iperergiche.



Fig. 4. - Cavia n. 9.

Intradermoreazione con Polis. c. b. V. a 48 ore. Accumulo leucocitario in via di disfacimento.

La raccolta essudativa leucocitaria che si viene formando quando raggiunga una particolare estensione, costituisce il centro della necrosi e della ulcerazione che si verifica successivamente in alcune reazioni macroscopiche.

Elemento riconoscitivo della reazione al polisaccaride del terreno è la presenza di vaste emorragie, non riscontrabili in tal grado neanche nelle più forti reazioni alle proteine del terreno, nonostante che il complesso dei fenomeni essudativi e leucocitari sia in queste ultime molto maggiore.

Le reazioni alle proteine ed ai polisaccaridi del corpo bacillare (queste ultime quando esistevano) non hanno offerto particolarità degne di nota.

Abbiamo seguito l'evoluzione istologica delle singole intradermoreazioni. Come è noto in questi casi all'essudazione leucocitaria fa seguito una proliferazione sostitutiva per parte degli elementi cellulari dei tessuti.

Abbiamo notato un comportamento differente per le diverse frazioni adoperate; infatti la reazione mesenchimale è imponente nel caso di P.T.V., con formazione oltre che di uno spesso vallo istiocitario intorno alla zona essudativa, anche con una intensa proliferazione cellulare in distretti distanti

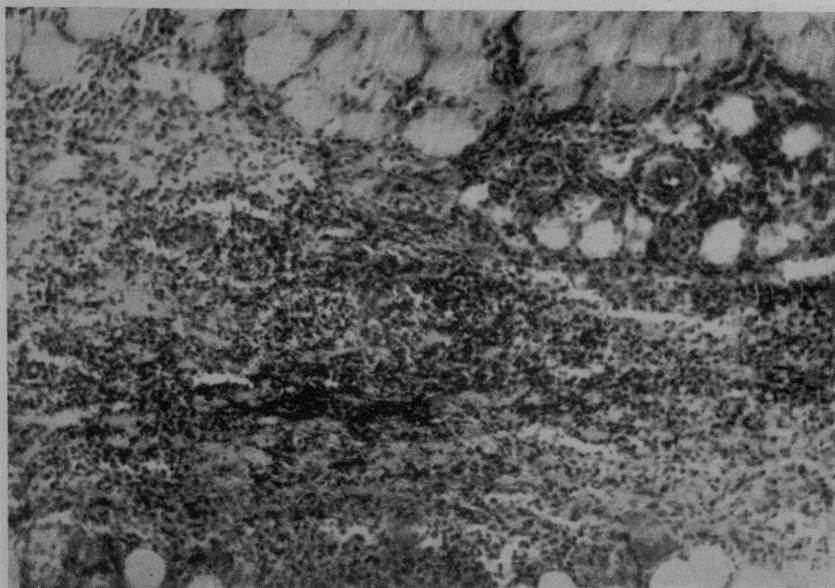


Fig. 5. — Cavia n. 7.  
Intradermoreazione con Prot. c. b. V. a 48 ore.

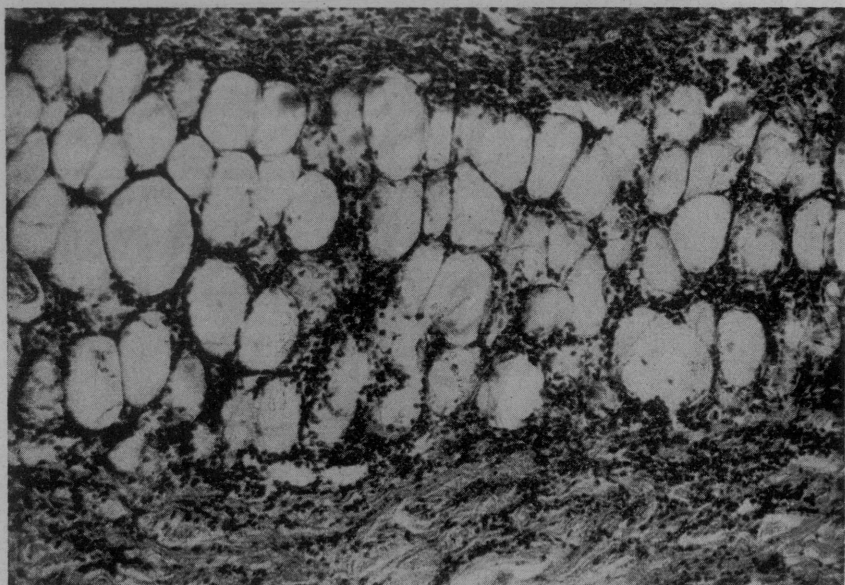


Fig. 6. — Cavia n. 9.  
Reazione linfocitoide a livello del tessuto adiposo (con M. D. C. terr.).

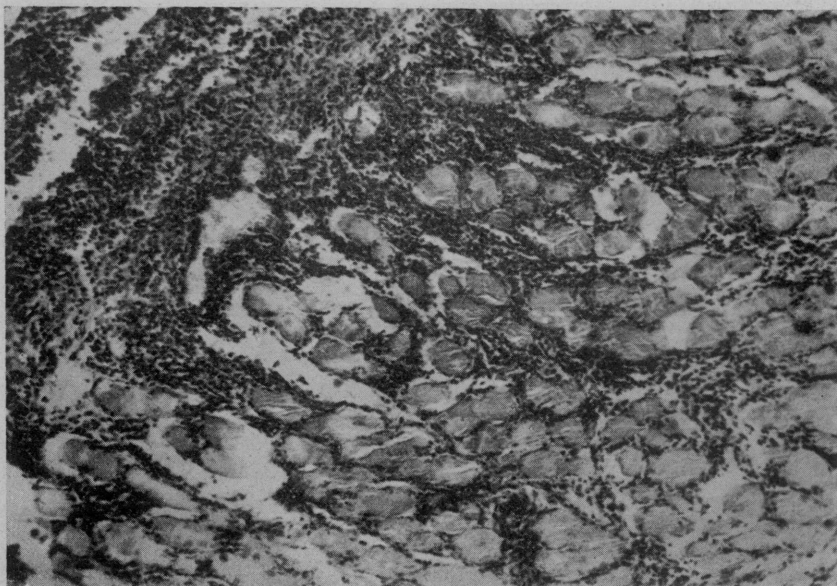


Fig. 7. - Cavia n. 10.  
Reazione linfocitoide a livello del tessuto muscolare (con M. D. C. terr.).

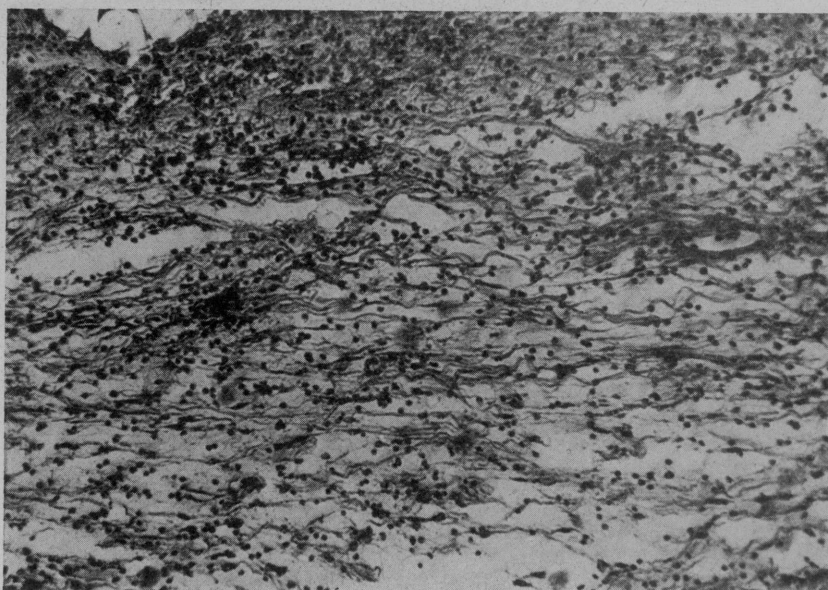


Fig. 8. - Cavia n. 10.  
Edema profondo del derma (con M. D. C. terr.).

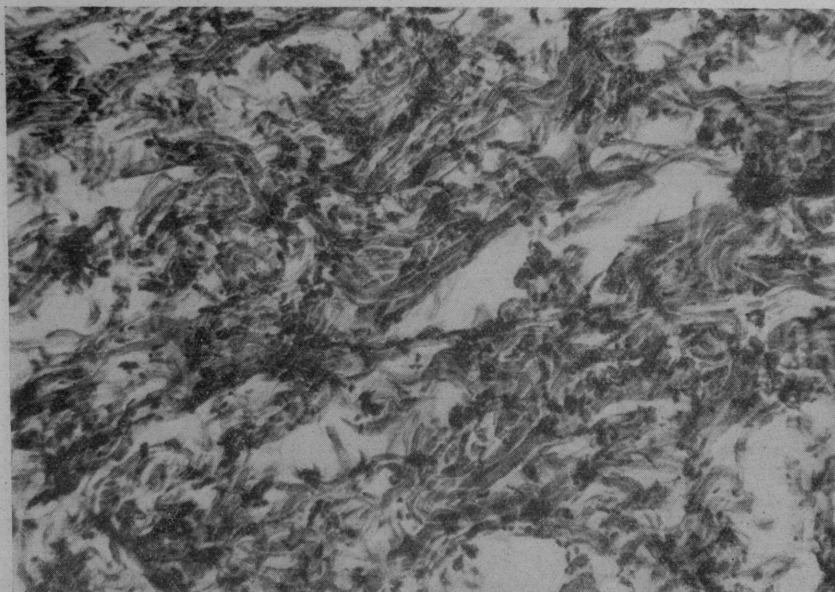


Fig. 9. — Cavia n. 4.

Edema e dissociazione dei fasci di tessuto fibroso (con M. D. C. terr.).



Fig. 10. — Cavia n. 16.

Reazione epitelioida diffusa (con M. D. C. terr.).

dal punto di inoculazione: come nel tessuto adiposo e tra i fasci muscolari sottostanti alla pelle.

Di minor grado e di più breve durata è questo fenomeno per le Prot. c. b. V.: inoltre, caratteristica per le M. D. C. terr. è la formazione di elementi cellulari giganti assai ben visibili dopo 5-7 giorni dall'inoculazione; cellule che appaiono dotate di più nuclei, però non distribuiti alla periferia, come avviene in genere nelle cellule giganti del tessuto tubercolare.

La formazione di tessuto tubercoloide che si verifica nelle reazioni alle M. D. C. terr. indica che le reazioni suscitate da questa frazione sono quelle che hanno maggiori caratteri di specificità.

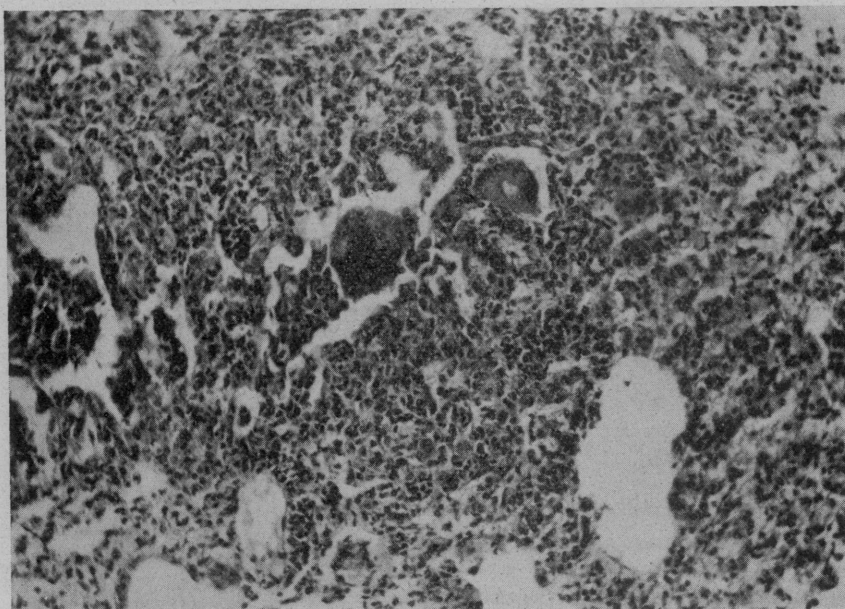


Fig. 11. — Cavia n. 18.

Tessuto epitelioido con cellule giganti all'interno dell'ulcerazione (con M.D.C. terr.)

Per estendere il controllo anche al di fuori delle frazioni del b. K. ci è parso opportuno studiare l'evoluzione macro- e microscopica anche delle reazioni cutanee provocate dall'iniezione intradermica di sospensioni batteriche non tubercolari.

Perciò in 6 cavia iniettammo al fianco destro mmg. 1 di proteina Vallée terreno in 0,10 ccm.; al fianco sinistro anteriormente ccm. 0,10 di una sospensione di b. coli [1 ansata in cc. 2 uccisi al calore (70° per 1 ora)]; posteriormente cc. 0,10 di una sospensione di stafilococco aureo (1 ansata in cc. 2) pure ucciso al calore.

Una sola di queste cavia ha avuto un'evidente reazione macroscopica all'iniezione di germi non tbc.; il b. coli: deve essere però rilevato, che tale reazione è di gran lunga meno forte di quella avutasi nello stesso animale con le M. D. C. terr.

Microscopicamente, nelle prime 24 ore i fenomeni essudativi prodotti dall'iniezione delle sospensioni di b. coli e di staf. aureo somigliano, sia pure con molto minore intensità, a quelli che si hanno con le frazioni tubercolari.

Dove si osserva una netta differenza è nella successiva reazione istiocitaria, che, assente completamente nello stafilococco, è apparsa appena accennata con il *b. coli*.

I risultati di questi controlli quindi avvalorano sempre più la specificità delle reazioni ottenute con le proteine tubercolari.

TABELLA II.

| Cavie | Lato  | Lettura a 24 ore |     | Lettura a 48 ore |        | Animale ucciso |
|-------|-------|------------------|-----|------------------|--------|----------------|
|       |       | S.               | D.  | S.               | D.     |                |
| 21    | Ant.  | —                | +++ | —                | ++++   | a 2 giorni.    |
|       | Post. | + —              |     | + —              |        |                |
| 22    | Ant.  | +                | +++ | ++               | ulcera | id.            |
|       | Post. | +                |     | +                |        |                |
| 23    | Ant.  | +                | +++ | +                | ulcera | a 5 giorni.    |
|       | Post. | —                |     | —                |        |                |
| 24    | Ant.  | +                | ++  | +                | +++    | id.            |
|       | Post. | —                |     | —                |        |                |
| 25    | Ant.  | + —              | +   | +                | ++     | a 7 giorni.    |
|       | Post. | —                |     | —                |        |                |
| 26    | Ant.  | + —              | +   | +                | ++     | id.            |
|       | Post. | + —              |     | —                |        |                |

#### PROVA INTRATESTICOLARE DI LONG.

Questa prova fu eseguita su 12 cavie che vennero divise in 4 gruppi di 3 ciascuno.

Il 1° gruppo riceve nel testicolo sinistro mg. 1 di Polis. V. T. in cc. 0,1 e nel testicolo destro mg. 1 di M. D. C. terr.

Il 2° gruppo riceve nel testicolo sinistro mg. 1 di Polis. c. b. V. e nel testicolo destro mg. 1 di Prot. c. b. V.

Questi due gruppi di animali vengono uccisi dopo 3 giorni per l'osservazione delle reazioni precoci.

Gli animali del 3° e del 4° gruppo, trattati rispettivamente come quelli dei due precedenti, vengono uccisi invece dopo 30 giorni per l'esame delle lesioni a distanza di tempo dall'iniezione.

Dall'esame delle alterazioni riscontrate nei testicoli si rileva che solo le proteine del terreno hanno esplicata una azione tubercolinica paragonabile a quella descritta da LONG. Cioè, in un primo tempo i fenomeni della reazione precoce consistente essenzialmente in essudazione ed infiltrazione peritubulare, accompagnata da necrosi degli elementi seminali di alcuni tubuli: successivamente, dopo circa 1 mese, l'esistenza di una totale atrofia degli elementi nobili di alcuni gruppi di tubuli, la parete dei quali appare talvolta ridotta ad un sottile strato ialinizzato di cellule appiattite.

Le presenti nostre ricerche hanno confermato anche attraverso i dati istologici le proprietà tubercoliniche classiche delle frazioni proteiche esaminate.



Fig. 12.

Reazione precoce testicolare (con M. D. C. terr.).



Fig. 13.

Reazione testicolare tardiva.

Per i polisaccaridi del corpo bacillare è apparso evidente, data l'assenza di vere reazioni macroscopiche e per l'esiguità della risposta istologicamente accertabile, che essi hanno scarissimo o nessun potere cutireattivo nella cavia tubercolosa così come avviene nell'uomo.

Per quanto concerne i polisaccaridi del terreno le indagini sperimentali eseguite hanno confermato che le reazioni da essi suscitate, tanto per il loro decorso quanto per il loro substrato anatomico iniziale, differiscono da quelle tubercoliniche classiche.

Queste nostre ricerche confermano inoltre che nel b. K. esistono molteplici frazioni a potere biologico differente e confortano l'ipotesi che tali diverse frazioni agendo contemporaneamente o alternativamente, predominando in varia misura l'una sull'altra ed in rapporto alle diverse condizioni di reattività organica preesistenti od acquisite, siano fattori essenziali del polimorfismo delle affezioni tubercolari.

Approfondendo le indagini in questo senso, seguendo anche quanto è stato fatto da CATTANEO e collaboratori i quali hanno dimostrato che nei tubercolosi esistono proteasi ben distinte verso alcuni antigeni del b. K. ci verranno rivelati aspetti e meccanismi nuovi della patogenesi delle malattie tubercolari.

#### RIASSUNTO

Con saggi intradermici e testicolari in cavie tubercolose è stata esaminata macro- e microscopicamente l'evoluzione delle reazioni alle proteine e ai polisaccaridi del corpo bacillare e del terreno di coltura del bacillo di Koch.

È stata accertata una maggiore intensità di fenomeni per le proteine del terreno, che giungono a dare, oltre al fenomeno di Koch anche una reazione tubercoloide del tessuto. In ordine decrescente presentano potere cutireattivo la proteina del corpo bacillare, il polisaccaride del terreno di coltura e il polisaccaride del corpo bacillare.

#### RÉSUMÉ

On a examiné macroscopiquement et microscopiquement par des épreuves intradermiques l'évolution des réactions aux protéines et aux polysaccharides du corps bacillaire et du terrain de culture du bacille de Koch.

On a reconnue une intensité plus grande des phénomènes pour les protéines du terrain qui peuvent donner, outre le phénomène de Koch, une réaction tissulaire tuberculoïde.

Par ordre décroissant, la protéine du corps bacillaire, le polysaccharique du terrain de culture, le polysaccharide du terrain bacillaire présentent des réactions cutanées.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Mittels intradermalen und testikulären Versuchsproben wurde die Evolution der Protein- und Polysaccharidreaktionen des Bazillenkörpers und des Kochbazillusnährbodens makro- und mikroskopisch untersucht.

Es wurde eine höhere Intensität der Erscheinungen für die Proteinen des Nährbodens festgestellt, diese erzeugen, ausser dem Koch'schen Phänomen, eine tuberkuloide Gewebsreaktion.

In absinkender Anordnung zeigen hautreaktive Reaktionen die Protein des Bazillenkörpers, der Polysaccharide des Nährbodens und der Polysaccharide des Bazillenkörpers.

### SUMMARY

The evolution of the reactions of the bacillary body and the culture medium to proteins and polysaccharides has been examined, through intradermic and testicular tests, both macro- and microscopically.

There was ascertained a greater intensity in the reactions of the proteins of the culture medium which gave not only the Koch phenomenon but also a tuberculoid tissual reaction.

Cutireactive reactions are produced in decreasing order by the protein of the bacillary body, the polysaccharide of the culture medium, and the polysaccharide of the bacillary body.

~~240080~~

59451

