

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

B. BESTA e C. PANÀ

**RICERCHE ISTOLOGICHE E BATTERIOLOGICHE
SULLA INOCULAZIONE ENDOVENOSA NEL CONIGLIO
DI UNA EMULSIONE DISPERSA DI « MONILIA ALBICANS »**

Estratto da ANNALI DELL'ISTITUTO « CARLO FORLANINI »
Anno IV, N. 7-8 Pag. 521-528

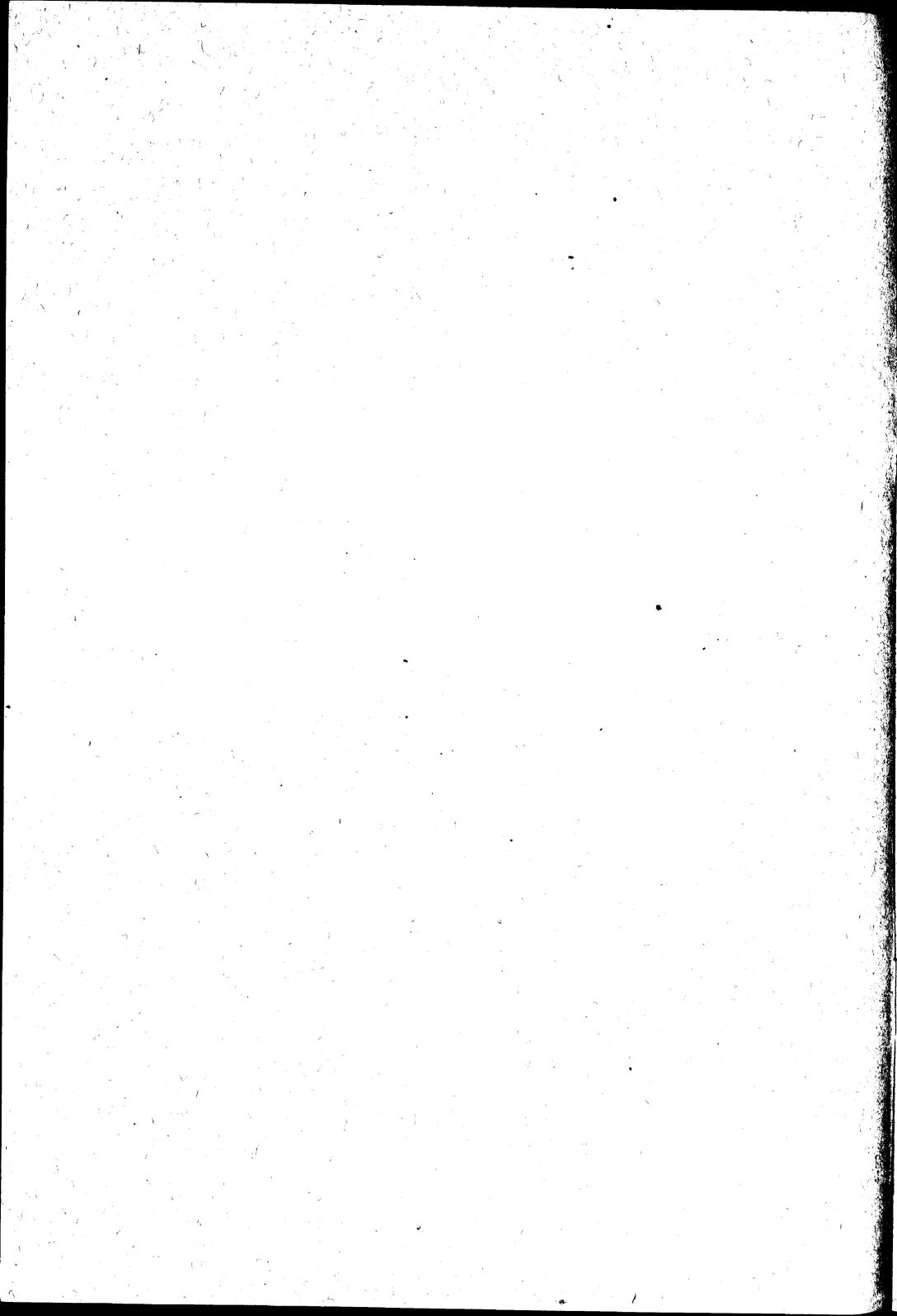


Misc B
6P

39

ROMA
TIPOGRAFIA OPERAIA ROMANA
Via Emilio Morosini, 27

—
1940-XVIII



RICERCHE ISTOLOGICHE E BATTERIOLOGICHE SULLA INOCULAZIONE ENDOVENOSA NEL CONIGLIO DI UNA EMULSIONE DISPERSA DI «MONILIA ALBICANS».

BRUNO BESTA e CARLO PANÀ

In ricerche precedenti effettuate in questo Istituto fu presa in esame sperimentalmente l'azione di emulsioni di bacilli di Koch in diverso stato fisico di aggregamento. Rimandiamo per i dettagli di tecnica a tali pubblicazioni (1), limitandoci qui a ricordare come l'inoculazione nella cavia, per vie diverse di introduzione, di b. di Koch « dispersi » abbia provocato delle manifestazioni istologiche immediate nei polmoni ed anche nel fegato, che presentavano, rispetto a quelle riscontrate negli animali controllo il carattere di più spiccata allergia. Inoltre, le prime localizzazioni di bacilli di Koch « dispersi » avevano in seguito una precocissima evoluzione verso la specificità tuberculare.

Oltre a ciò si potè notare, sia, subito dopo l'inoculazione dei bacilli, sia nel seguito dell'esperienza, una maggiore diffusione dei bacilli stessi in tutti gli organi delle caviae.

Ci è sembrato opportuno riprendere queste esperienze adoperando però in luogo dei bacilli di Koch un micete di nota biologia quale la *Monilia Albicans*.

Il volume dei filamenti miceliali e delle blastospore di questo micete si aggira tra i 6,6-9,4 μ è assai superiore a quello del bacillo di Koch e molto simile per grandezza a quello degli elementi corpuscolati del sangue.

Per questo fatto, meglio che con le emulsioni di bacilli di Koch, ci è parso che ci sarebbe stato consentito poter paragonare l'effetto di due sospensioni diversamente preparate, specie riguardo alla loro eventuale azione embolica sui più fini capillari polmonari.

Abbiamo voluto osservare inoltre se anche con i miceti così trattati esistesse una differenza nella reazione tissurale immediata e una loro diversa dispersione nell'organismo trattato.

Sono stati perciò inoculati per via endovenosa dieci conigli; con 2 cm³ di una emulsione di *Monilia Albicans* (ceppo CRAICK-LONDON) cresciuta per due giorni in agar glucosato al 2%. Furono emulsionate in 50 cm³ di soluzione fisiologica 5 ansate di coltura (ansa calibrata a 5 mmgr.) l'emulsione fu divisa in due parti eguali. La prima fu inoculata allo stato integrale ai conigli della serie A che servirono di controllo, la seconda dopo 15' di agitazione nel vibroaggitatore elettrico MORELLI (tempo da noi riscontrato suffi-

(1) DADDI G., PANÀ C. — «Giorn. Batter. Immunol.», (1938), vol. 21, 5, 672.
— Id. Id.: «Ann. Ist. C. Forlanini», (1939), 11-12, 845.

ciente, in prove preliminari, per ottenere una quasi assoluta omogeneizzazione dell'emulsione) inoculata nei conigli della serie B.

Gli animali furono uccisi dopo poche ore dall'inoculazione (1, 16, 36) per vedere gli effetti immediati della reazione tissurale; due furono uccisi più tardivamente (5-19 giorni) per osservare l'evoluzione diversa delle localizzazioni. Nelle presenti esperienze abbiamo voluto notare anche con prove batteriologiche, la diffusione immediata dei miceti e perciò abbiamo fatto, dopo prelievo sterile della autopsia, delle colture dagli organi, seminando su due provettoni di agar glucosato al 2% e agar Sabouraud.

Nella tabella a pag. seguente sono riportate il protocollo delle esperienze e l'esito delle prove colturali.

I reperti istologici sono i seguenti:

Nei *polmoni* degli animali inoculati (con sospensione B), dopo un ora, vivacissimo movimento di reazione istiocitaria nei setti ed in parte negli alveoli, *diffuso a tutto quanto l'organo*. In prevalenza si tratta di giovani leucociti neutrofilo ma numerosi appaiono anche gli istiociti settali. Dopo 16 h. tale reazione è ancora più marcata e sempre diffusa a tutta l'estensione della superficie polmonare; però molto più abbondanti appaiono gli istiociti (vedi fig. 1). A 36 ore la reazione conserva ancora i medesimi caratteri di estensione e di intensità però è quasi del tutto istiocitaria. Esiste anche abbondante essudazione plasmatica e cellulare nel lume alveolare.

Nei corrispondenti animali della serie A (controllo) si osserva, dopo un'ora, nei polmoni una reazione essudativa istiocitaria diffusa, dopo 16 h. tale reazione non è egualmente intensa su tutto l'ambito polmonare ma già si vede nettamente che essa è limitata ad alcuni distretti polmonari (v. fig. 2); molte aree di parenchima sono indenni: tale constatazione appare anche più evidente nei polmoni degli animali uccisi dopo 36 h. dall'inoculazione.

A 5 giorni dall'inoculazione i reperti polmonari appaiono assai regraditi di intensità nella serie B (coniglio 103) ove le spore appaiono rare mentre si mantengono su per giù eguali nella serie A (coniglio 6016).

Negli animali uccisi dopo 16 giorni non si riscontrano lesioni di sorta nei polmoni del coniglio 720 (serie B), esistenza di noduli circoscritti istiocitari nel coniglio 2019 (serie A). Le spore non si colorano più.

Nel fegato degli animali della serie B uccisi dopo 1 h. si nota la esistenza di una reazione diffusa ed uniforme da parte delle cellule di KUPFER a tutto l'organo; lo stesso fenomeno è ben visibile anche 16 h. e a 36 h. dall'inoculazione. Sono ben visibili delle spore, se isolate, specie negli spazi portobiliari. Completamente dissimili sono i reperti nei fegati degli animali della serie A, non si riscontra infatti alcuna reazione né dopo 1 h., né dopo 16 h., è solo molto scarsa a 36 h. dall'inoculazione.

Tale reperto è ben visibile anche nelle sezioni colorate con il metodo di STROPENI (elettivo per i corpi miceliali): le spore si vedono ovunque isolate nei polmoni nel primo caso, mentre sono in piccoli cumuli nell'interno dei noduli formatisi negli animali inoculati con le comuni emulsioni.

Anche successivamente i reperti epatici sono diversi nelle due serie: infatti nella serie B osserviamo dopo 5 giorni degli infiltrati cellulari assai evidenti e circoscritti (v. fig. 3); dopo 19 giorni la presenza di tipici granulomi (vedi fig. 4).

Tale reperto non lo si ritrova nei corrispondenti conigli della serie A.

Nei reni è stata riscontrata una intensa reazione degli elementi mesenchimali della midollare, molto evidente è nei conigli 239 e 155.

C O N I G L I O N.	FEGATO		SANGUE		URINE		RENE		POLMONE	
	Crescita dopo		Crescita dopo		Crescita dopo		Crescita dopo		Crescita dopo	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
S E R I E A - E M U L S I O N E N O R M A L E										
1. - N. 1216, gr. 2345. - Sacrificato dopo 1 ora . . .	++++	++++	2 col.	5 col.	⊖	⊖	++	+++	++++	++++
3. - N. 176, gr. 2330. - Sacrificato dopo 16 ore . . .	++++	++++	⊖	⊖	⊖	⊖	+++	+++	++	++
5. - N. 272, gr. 2330. - Sacrificato dopo 36 ore . . .	++	++	⊖	⊖	⊖	⊖	++	++	⊖	⊖
7. - N. 6016, gr. 2180. - Sacrificato dopo 5 giorni . . .	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
9. - N. 2019, gr. 2309. - Sacrificato dopo 19 giorni . . .	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
S E R I E B - E M U L S I O N E D I S P E R S A										
2. - N. 155, gr. 2415. - Sacrificato dopo 1 ora . . .	++++	++++	10 col.	30 col.	⊖	⊖	+++	+++	++++	++++
4. - N. 239, gr. 2450. - Sacrificato dopo 16 ore . . .	+++	+++	6 col.	6 col.	⊖	⊖	+++	+++	+++	+++
6. - N. 902, gr. 2250. - Sacrificato dopo 36 ore . . .	++	++	⊖	⊖	⊖	⊖	3 col.	3 col.	3 col.	5 col.
8. - N. 103, gr. 2220. - Sacrificato dopo 5 giorni . . .	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
10. - N. 720, gr. 2180. - Sacrificato dopo 19 giorni . . .	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

Con i segni +, ++, +++, +++++, si indica una crescita più o meno abbondante dei microorganismi non essendo possibile una conta esatta del numero delle colonie come è invece indicato in qualche caso particolare.

Il segno ⊖ significa crescita nulla.

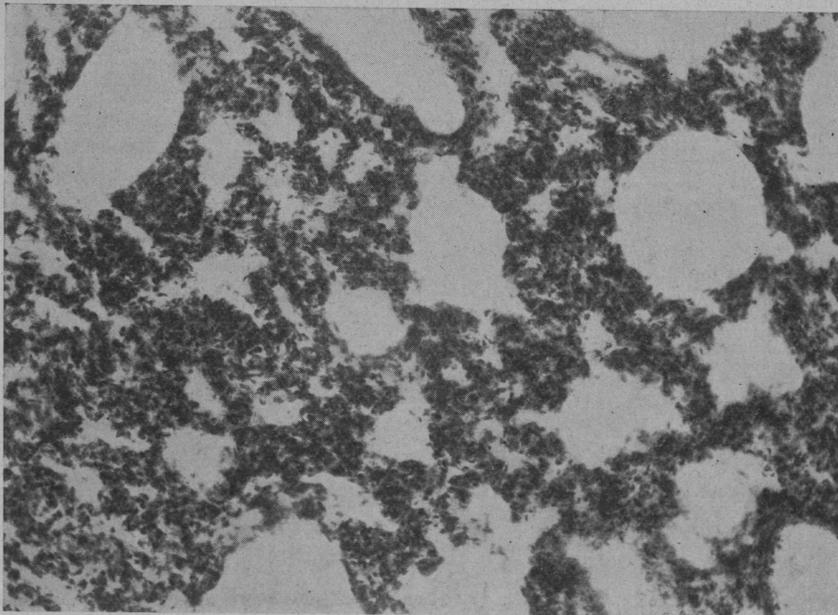


Fig. 1.

Coniglio 176. — Polmone: Proliferazione istiocitaria uniforme.

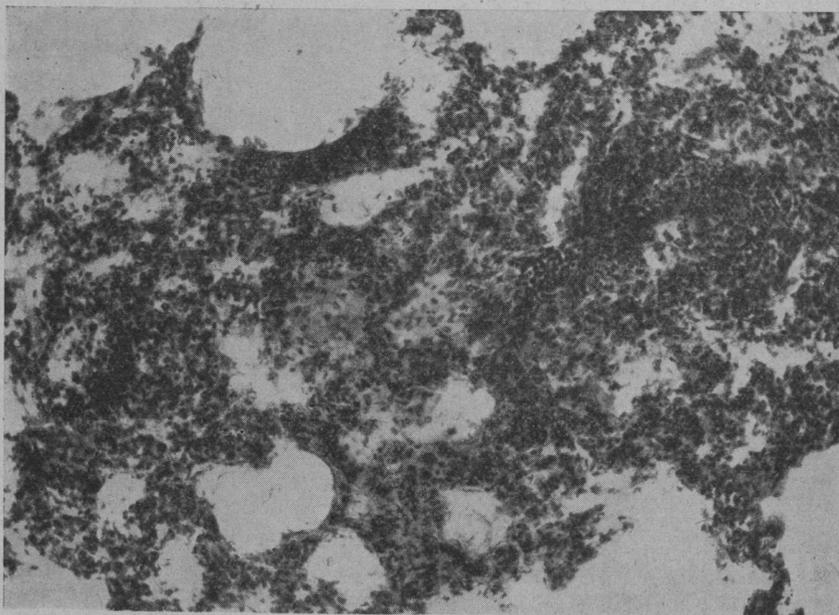


Fig. 2.

Coniglio 239. — Polmone: Formazioni nodulari.

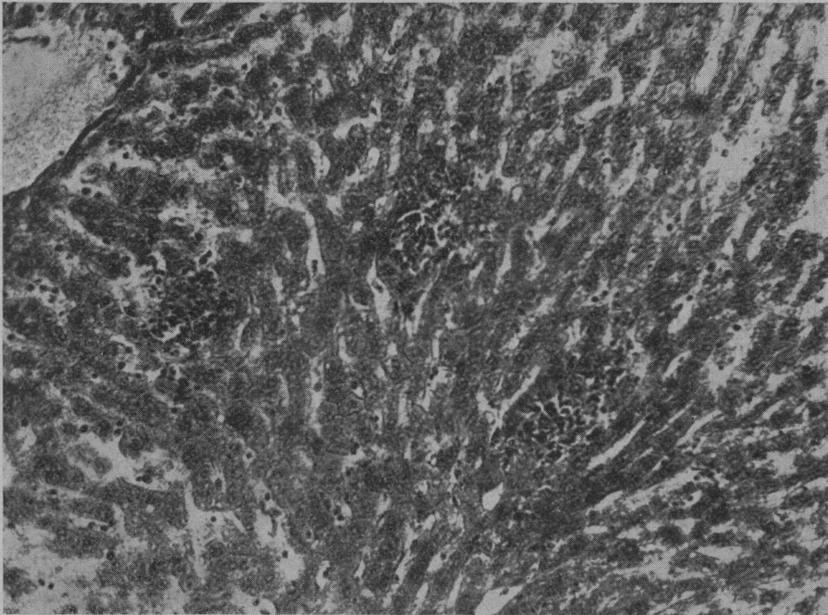


Fig. 3.

Coniglio 103. — Iniziali localizzazione epatiche.

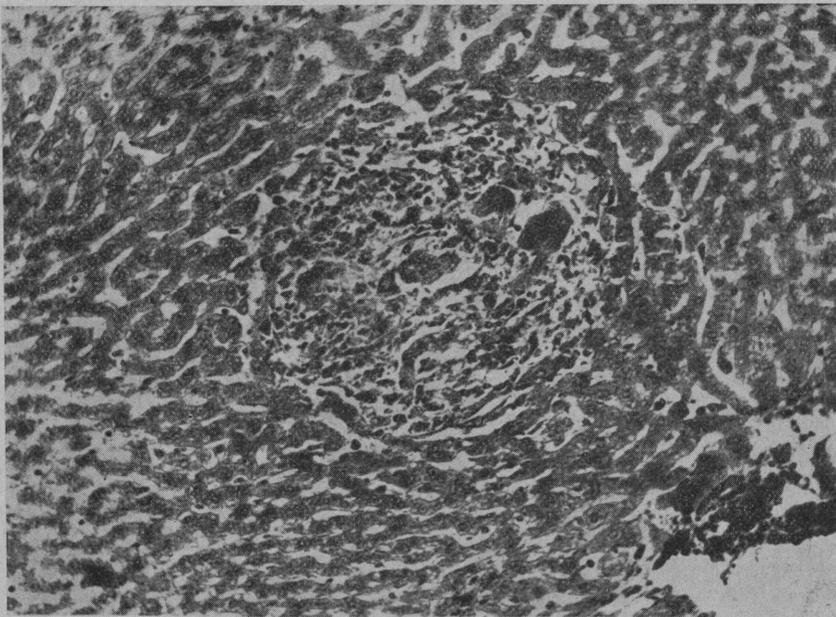


Fig. 4.

Coniglio 720. — Granuloma epatico.

* * *

I reperti istologici stanno ad indicare che la inoculazione di una sospensione contenente miceti omogeneizzati, anzitutto distribuisce più uniformemente nei vari organi il microorganismo; tale fenomeno è molto evidente nel polmone — luogo del 1° arresto — dove la reazione tissurale non solo è più diffusa ma anche più vivace, l'essudazione di elementi ematici dura meno, più pronta è la consecutiva reazione istiocitaria. Si può pensare inoltre — dato che 5 gg. dopo l'inoculazione non la si riscontra più nei polmoni — che questa precoce reazione istiocitaria abbia la finalità di una facile eliminazione dei miceti inoculati.

Nella serie A invece la reazione è più tardiva, più localizzata e più duratura. Tale differenza di comportamento del parenchima polmonare di fronte ad emulsioni dello stesso micete è da attribuirsi esclusivamente a fattori meccanici. Le spore disperse impregnano più facilmente tutto il tessuto polmonare, vi provocano un'allergia tissurale più vivace; nello stesso tempo, per la ragione medesima della loro notevole diffusione sono eliminate più facilmente. Nella serie controllo invece gli elementi più grossolani dell'emulsione non possono oltrepassare per la loro grandezza i più sottili capillari, formano perciò dei veri e propri emboli micotici nel senso più volte espresso anche per la patologia umana da E. MORELLI e provocano quindi *in situ* una reazione più localizzata e più duratura.

Noi non possiamo asserire, data l'uccisione, dopo troppo poco tempo, degli animali in esame, se successivamente in queste zone polmonari si sarebbero sviluppati dei granulomi specifici; certamente l'esistenza di queste lesioni nodulari circoscritte rappresenta un elemento a favore di questa ipotesi.

Anche i reperti degli altri organi, fegato in particolare, e rene confermano i dati ora esposti.

La reazione istiocitaria più diffusa e più precoce denota che i miceti dispersi possono oltrepassare assai più facilmente la barriera polmonare, passare quindi nel circolo generale ed essere fermati successivamente nell'altro grande organo filtro dell'organismo, nel fegato.

Che si tratti poi di miceti che abbiano subito oltrepassato il filtro polmonare appare ovvio dalla precocità (1 ora) con cui si è iniziata la reazione istiocitaria del fegato. Nella serie A la reazione del mesenchima epatico è più scarsa ed in ogni caso più tardiva.

Più arduo è poter spiegare l'esistenza dei granulomi riscontrati così precocemente nel fegato del coniglio 103 e in grado più avanzato nel n. 720. Che si tratti di granulomi dovuti ai miceti inoculati appare indubbio per la loro costituzione generica e per averli noi riscontrati in precedenti prove fatte per determinare l'attività biologica di questo micete. Colpisce maggiormente la precocità della loro evoluzione più che la loro non comparsa nei corrispondenti animali di controllo. Infatti in questi ultimi (prescindendo dalle lesioni polmonari) non si può escludere che in seguito essi non si sarebbero potuti sviluppare: per quanto a noi consta occorre almeno un mese per il loro sviluppo nel fegato dei conigli.

Solo possiamo prospettare che per le condizioni sperimentali adottate e per la constatata maggiore impregnazione da parte dei microorganismi di tutti i tessuti venga a prodursi anche una modificazione delle condizioni di allergia generale tale da poter influire sulla evoluzione delle localizzazioni epatiche.

Le ricerche batteriologiche confermano i dati istologici, nel senso che si è osservata, nei conigli inoculati con sospensione B, una crescita di colonie che è eguale quando è stata molto abbondante ma che è nettamente maggiore in quei casi, come ad esempio nel sangue, nei quali è stato possibile enumerare

le colonie. Infatti nel coniglio 1216 (A) sacrificato dopo 1 h. si accertano all'esame del sangue seminato nei terreni sensibili 2-5 colonie, il coniglio 176 dà un reperto negativo dopo 16 h.; mentre nel coniglio 155 della serie B si ha la crescita del sangue di 10-30 colonie e nel coniglio 239 ne crescono ancora 6.

Inoltre le colture del rene del coniglio 272 sono ++ mentre del rene del coniglio 902 se ne sviluppano solo 3, il che significa una eliminazione più lenta e più tardiva di miceti nella serie A.

Da quanto è stato esposto si può osservare che l'inoculazione endovenosa di elementi miceliali di grandezza simile a quella dei corpuscoli del sangue in emulsione normale e finemente « dispersa » provoca nel 2° caso una reazione polmonare più diffusa, più precoce e più facilmente eliminabile. In conseguenza di ciò si verifica un più rapido passaggio degli elementi miceliali nel circolo generale con localizzazione precoce nel rene e nel fegato. Tale rilievo scaturito da esami batteriologici e istologici conferma ulteriormente l'asserto di E. MORELLI sulla funzione di filtro dei vari organi, mentre non esclude la possibilità che, nei processi ulteriori di evoluzione delle singole localizzazioni, non influisca anche una modificata allergia locale e generale.

RIASSUNTO

Gli AA. hanno proceduto all'inoculazione endovenosa, nei conigli, di elementi miceliali di grandezza simile a quella dei corpuscoli del sangue in emulsione normale e finemente dispersa constatando che nel secondo caso si verifica una reazione polmonare più diffusa, precoce e facilmente eliminabile cui si unisce un passaggio più celere degli elementi miceliali nel circolo generale e localizzazione precoce nel rene e nel fegato. Il reperto conferma l'asserto di E. MORELLI sulla funzione di filtro dei vari organi mentre, per quanto riguarda l'evoluzione ulteriore, non esclude l'azione di una modificata allergia locale e generale.

RÉSUMÉ

Les AA. ont procédé à l'injection endo-veineuse dans les lapins de quelques éléments de mycélium d'une grandeur presque égale à celle des corpuscules du sang en émulsion normale et finement dispersés ; ils ont remarqué que pour le deuxième cas se vérifie une réaction pulmonaire plus diffusée, précoce, d'élimination facile : à cette élimination il faut joindre un passage plus rapide des éléments du mycélium dans le cercle général et une localisation précoce dans le rein et dans le foie.

Le diagnostic confirme l'affirmation de E. MORELLI : c'est à dire que les différents organes accomplissent une fonction de filtre, pendant que, pour ce qui regarde l'évolution ultérieure, il faut pas exclure l'action d'une allergie modifiée locale et générale.

ZUSAMMENFASSUNG

Verff. impften intravenös Micetenelemente von der Grösse eines roten Blutkörperchens in normaler und fein zerstoßener Emulsion in Kaninchen und stellten fest, dass im letzteren Fall eine ausgebreitete frühzeitige und leicht eliminierbare Lungenreaktion eintritt, an die sich ein rascherer Durchgang der Micetenelemente in den allgemeinen Kreislauf und eine frühzeitige

Lokalisation in der Niere anschliesst. Der Befund bestätigt die Behauptung MORELLI'S über die Filterfunktion der verschiedenen Organe, während betrefi der weiteren Evolution die Wirkung einer veränderten lokalen und allgemeinen Allergie nicht ausgeschlossen wird.

SUMMARY

The authors have subjected rabbits to endovenous injections of mycelial elements similar in size to the blood corpuscles in normal emulsion and also finely dispersed; they observed that in the second case a more diffused pulmonary reaction takes place, precocious and easily eliminable, to which there is united a quicker passage of the mycelial elements into the general circulation and a precocious localization in the reins and liver. The findings confirm the assertion of EUGENIO MORELLI, relative to the function of the filtre of the various organs, whilst, in regard to ulterior evolution, it does not exclude a modified local and general allergical action.

~~222222~~
~~222222~~



60601

