

76

Al distintissimo collega F. Fulci

DOTT. FRANCESCO PURPURA

con sincera stima

F. A.

SULLE STREPTOTRICEE E SULLA LORO AZIONE

negli animali da esperimento

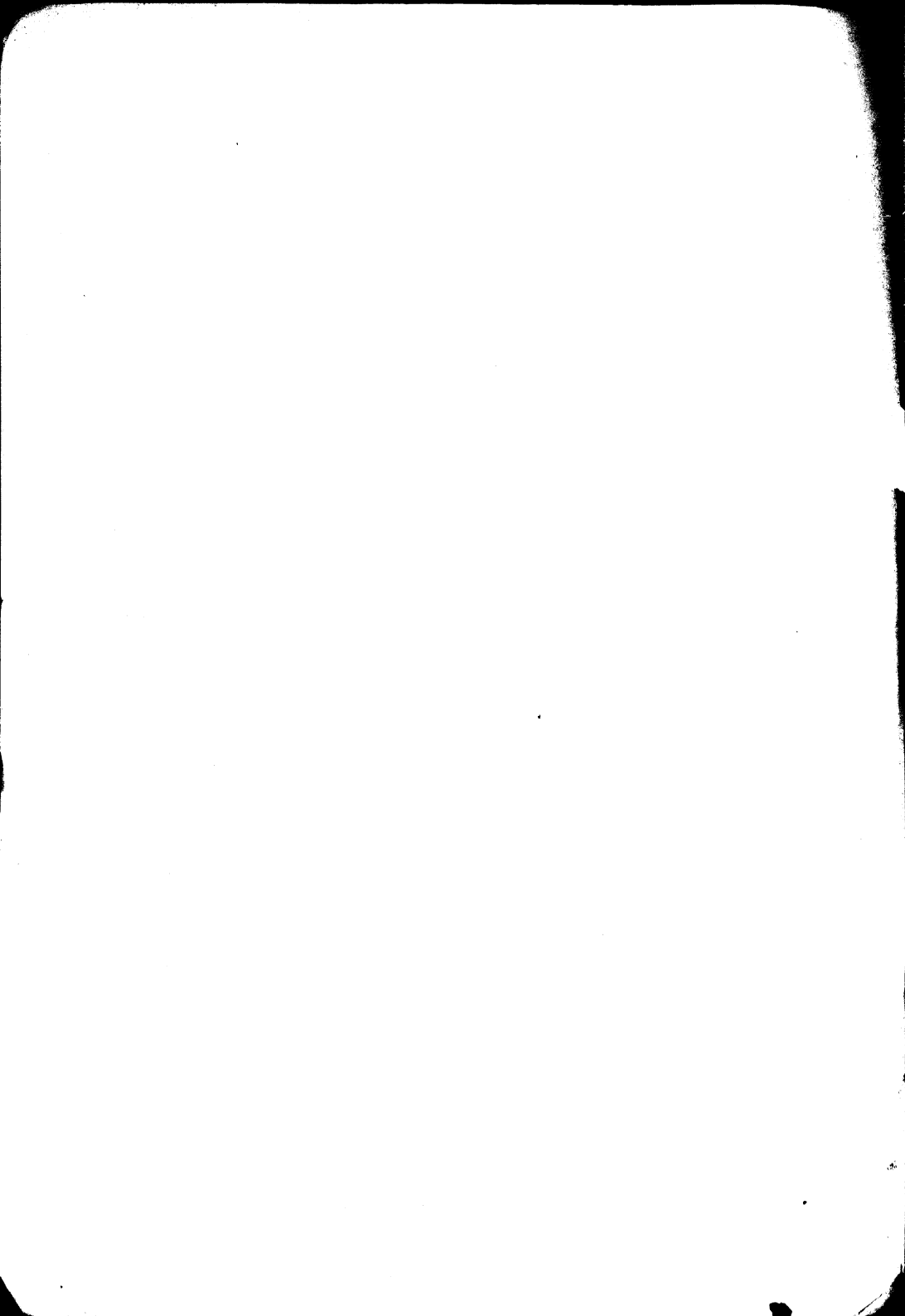
Estratto dal « POLICLINICO », Volume XVII-C, 1910

R O M A

AMMINISTRAZIONE DEL GIORNALE " IL POLICLINICO ",

N. 46 - Via del Tritone - N. 46

1910



DOTT. FRANCESCO PURPURA

SULLE STREPTOTRICEE E SULLA LORO AZIONE

negli animali da esperimento

Estratto dal « POLICLINICO », Volume XVII-C, 1910

R O M A
AMMINISTRAZIONE DEL GIORNALE " IL POLICLINICO ",
N. 46 - Via del Tritone - N. 46

1910

CLINICA CHIRURGICA DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA

diretta dal prof. sen. F. DURANTE

Sulle streptotricce e sulla loro azione negli animali da esperimento

per il dott. FRANCESCO PURPURA, docente di patologia chirurgica

(con due tavole litografiche a colori).

Gli studi diligenti ed oculati su certi processi patologici dell'organismo umano hanno messo in rilievo man mano la frequenza delle streptotricce come causa di malattie; ed oramai è notevole l'importanza di esse nella patologia.

Numerose ricerche batteriologiche e sugli animali da esperimento sono state inoltre condotte per individualizzarle e studiarne la biologia e l'azione patogena. Le ricerche batteriologiche hanno avuto notevole sviluppo, ma tuttavia non hanno fornito ancora risultati chiari in tutti i punti e tanto meno completi.

Più che la ricerca batteriologica, appare deficiente e monca la ricerca sugli animali da esperimento: ricerca, da cui ancora si aspetta l'esatta conoscenza dei processi patologici, a cui le streptotricce possono dar luogo.

Aiutato pertanto dagl'illuminati consigli dell'illustre Maestro prof. sen. Durante, al quale tributo i miei più vivi ringraziamenti, ho intrapreso e condotto avanti uno studio sperimentale.

*
* *

Il gruppo delle streptotricce viene oggi collocato tra gli schizomiceti e gli ifomiceti.

È stato discusso anche sul nome di esse, preferendo alcuni il nome *actinomyces* a quello di *streptothrix*; ma è stata in ultimo accordata la preferenza al nome *streptothrix*, e si è riservata la parola *actinomyces* a designare le specie, che sono state riscontrate a produrre l'actinomicosi dell'uomo e del bue.

Le streptotricce sono costituite da filamenti lunghi, sottili, del diametro di 1 μ in media, dritti o ondulati, i quali si ramificano ripetutamente e presentano una

membrana limitante: dall'insieme dei filamenti ramificati risulta un fitto intreccio come un cespuglio.

Si riscontrano come saprofiti nell'aria, nell'acqua, nel terreno, sugli animali; sono state trovate più numerose nella campagna che nelle città, abbondano nei detriti delle piante dei cereali, dove il microrganismo non è distribuito ugualmente, ma con prevalenza nei frammenti di spighe e di paglia. Questo fatto avvalorava l'opinione di Boström, il quale insiste sull'importanza della trasmissione dell'actinomicosi del bue all'uomo ed agli animali per mezzo dei frammenti di vegetali: frammenti di spighe d'orzo sono stati trovati, negli actinomicomi umani operati da Soltmann, Ammentrop, Schartau, Jürinka e da altri; e Berhta, Lunow, Fischer e Reverdin parlano di ammalati, in cui l'actinomicosi era seguita a puntura delle labbra e della lingua con paglie e spighe.

Per una classificazione netta delle streptotrici in singole specie mancano caratteri stabili: non esiste una sostanziale differenza di forma tra un dato numero di stipiti e un altro; nè come criteri assoluti di differenziazione possono servire i caratteri culturali, biologici e il potere patogeno. Grande è la variabilità, che è stata rilevata dagli studiosi, per i caratteri culturali e biologici; e in quanto al potere patogeno la *streptothrix* di Feré Faguet, quella di Buchholtz, quella di Sebrazès e Rivière, quella di Rulmann e Perutz, quella di Löbhain, isolate rispettivamente da un ascesso cerebrale, da un caso di gangrena polmonare, da un ascesso cerebrale e da focolai ascessoidi miliari consecutivi ad un'infezione pleuro-polmonare, dallo sputo di un individuo affetto da una malattia cronica del polmone, da un individuo morto con diagnosi di tubercolosi miliare acuta, tutte queste varietà di *streptothrix* non sono state ritenute differenziabili dalla non patogena *streptothrix alba* di Rossi-Doria, che è la stessa della Foersteri di Cohn e dell'oospora di Savageau e Radais: per il potere patogeno nelle cavie, si allontana dall'*albido flava* di Rossi Doria la *streptothrix*, che Isaia ha isolato da un'acqua potabile.

Il Sanfelice ha creduto di poter raggruppare i diversi stipiti di *streptothrix* in tre specie distinte.

Il primo gruppo è rappresentato dalla *streptothrix alba* e comprende un numero di stipiti piuttosto scarso, che nei terreni di cultura presentano una colorazione variabile dal bianco al grigio; è caratteristica di questo gruppo la mancata resistenza alla decolorazione con gli acidi, che il Sanfelice ha riscontrato costantemente, ripetendo la prova parecchie volte su materiale preso da culture svariate: egli però ha visto che alcuni stipiti di *streptothrix alba*, che hanno potere patogeno, nell'organismo degli animali da esperimento si frammentano, acquistano la forma bacillare e diventano resistenti agli acidi.

Rappresentante del secondo gruppo è la *streptothrix flava*, e in questo gruppo sono compresi gli stipiti che nei terreni di cultura danno un colorito giallo, bianco-giallastro, giallo-cedrina, roseo-carneo, rosso-aranciato; carattere distintivo di questo gruppo è la parziale resistenza agli acidi, cioè la proprietà di colorarsi col metodo Ziehl-Gabbet, a tratti bacillari brevi, o di media lunghezza, in rosso vivo, e a tratti, ordinariamente molto più lunghi dei primi, in bleu. La mancanza parziale di acido-resistenza scompare man mano coll'invecchiare delle culture, e nelle

culture molto vecchie si osservano soltanto segmenti bacillari, di varia lunghezza, acido-resistenti.

Come avviene per il primo gruppo, alcune *streptothrix* patogene del secondo gruppo si riscontrano nei tessuti delle cavie, conigli e cani sotto forma bacillare e resistenti agli acidi.

Il terzo gruppo ha per tipo la *streptothrix violacea* e per carattere differenziale la totale resistenza agli acidi, sia nelle culture giovani che nelle vecchie; comprende quelle streptotricce che hanno la proprietà di produrre nelle culture su patate una patina di colorito violetto-ametista e, nelle culture su agar, una patina di colorito ardesiaco-violacea: a questo gruppo è stata assegnata la *streptothrix viridis*, che il Lombardo Pellegrino ha isolato dal sottosuolo e che fornisce un colorito verdastro o rugginoso nelle culture per strisciamento in agar.

Inoculando alcune *streptothrix* appartenenti al terzo gruppo nelle vene delle cavie e dei conigli, il Sanfelice ha osservato all'autopsia degli animali, che morivano spontaneamente, la presenza di lesioni pseudotubercolari, frequenti specialmente nei polmoni e nei reni, ed ha trovato, nella sostanza centrale dei noduli, i microrganismi frammentati e resistenti alla decolorazione cogli acidi.

La classificazione del Sanfelice ha per base il carattere dell'acido-resistenza; si nota in essa poi come i gruppi abbiano una certa limitazione nella variabilità del colore.

Per l'acido-resistenza cade a proposito di ricordare gli esperimenti che il Lombardo Pellegrino ha fatto sul comportamento delle streptotricce nei grassi: nei grassi alimentari le streptotricce rappresentano un reperto costante. Il Lombardo Pellegrino ha dimostrato che le *streptothrix* sono capaci di vivere, relativamente meglio delle batteriacee, nei terreni grassosi, e specialmente nei grassi animali (burro, cacio) non privati delle sostanze proteiche con la sterilizzazione; ha dimostrato ancora che le *streptothrix* stesse, coltivate nei grassi, si spezzettano, assumono forma bacillare e tutte si mostrano acido-resistenti.

Il colore delle streptotricce nei terreni di cultura è ritenuto molto variabile. Il Bellisari ha isolato da grano di Odessa una *streptothrix* con tutti i caratteri della *streptothrix alba* ed ebbe poi da una vecchia cultura una provetta di agar con colonie di colore giallo-arancio, dalle quali ottenne un'altra cultura alba, con sporificazione color cenere: in un altro caso, credeva di aver ottenuto da grano di San Francisco la più autentica *streptothrix alba* in agar semplice e tale la riconosceva in vari trapianti, quando, avendola innestata in agar glicerinato, osservò che la *streptothrix* produceva pigmento ed assumeva un comportamento del tutto analogo a quello di una cromogena, nè, trasportandola di nuovo in agar semplice, poté ottenerla con i caratteri primitivi.

Dopo lo studio dei caratteri morfologici, culturali e biologici, è stato fatto quello dell'azione dei singoli stipiti di *streptothrix* sugli animali da esperimento, ma nella maggior parte dei casi non è stato preso in esame quanto meritava, volendo gli autori stabilire soltanto il potere patogeno, o no, di un dato stipite per completare il quadro dello studio batteriologico. Non sono state ancora sufficientemente e con esattezza studiati i processi che le *streptothrix* possono determinare

nell'organismo animale: studio molto importante, considerando che le *streptothrix* hanno parte notevole nella patologia umana, e tutto fa supporre che riguardo alle malattie dell'uomo meritino una considerazione maggiore di quella attualmente riconosciuta: potranno entrare a far parte delle forme patologiche da streptotricicee tante affezioni con decorso acuto o cronico e determinanti una setticemia od un processo localizzato più o meno simile al tubercolare, ovvero una formazione con certe apparenze di tumore.

Negli animali da esperimento, il Gasperini ha ottenuto, in seguito alla inoculazione di alcune streptotricicee, la formazione di granulomi; e nel cane, colla inoculazione di un *actinomyces*, ricavato primitivamente dai noduli di aspetto caseoso del polmone di un bambino morto di pseudo-tubercolosi actinomicotica, egli ebbe, non solo l'attecchimento del parassita con la forma pseudo-tubercolare, ma anche vari noduli con apparenza sarcomatosa nei polmoni e con ripetizione alla pleura.

Il Biagi, basandosi sopra reperti anatomo-patologici, culturali e di innesto, concludeva per le streptotricicee:

« a) che sperimentalmente siamo ancora ben lungi dalla certezza di potere raggiungere l'attecchimento, in guisa da poter riprodurre la fase parassitica, a localizzazione, che si avvera nell'uomo ed in genere nei processi morbosi primitivi;

« b) che gli animali muoiono in virtù di un veleno ad azione marantica, non di natura esogena e quindi da ricercare nel corpo batterico. ;

« c) le cosiddette localizzazioni a focolai o disseminate, pseudo-tubercolari, oltre di essere accidentali, non rappresentano una manifestazione attiva e progressiva del morbo, ma unicamente un fatto di difesa per parte dell'organismo, onde liberarsi dai germi non più vitali o per lo meno a vitalità molto ridotta, essendo fuori di dubbio la transitorietà e la precarietà loro nell'organismo vivente e la non riproducibilità *in vitro* e negli esperimenti: e ciò in analogia perfetta a quanto altri autori (Carini, Grohe e Block, ecc.) ottennero con polveri inerti, ifomiceti, ecc. ».

Il Bellisari ha eseguito esperimenti sui conigli con campioni di *streptothrix alba* di diversa provenienza e con due *streptothrix* colorate ch'egli descrive; ha inoculato gli animali per via sottocutanea, pleurica, tracheale e gastrica. Egli ha visto morire i conigli a varia distanza di tempo dall'inoculazione; quando l'animale è morto tardi, ha ottenuto un reperto di limitatissime lesioni locali, dove non si rinviene il parassita o almeno non esiste capace di riprodursi nei terreni artificiali; con le inoculazioni successive negli animali è riuscito ad esaltare la virulenza del microrganismo, in guisa da determinare la morte dell'animale in poche ore. Osserva il Bellisari che l'azione delle streptotricicee è locale e generale: quella locale si esprime con la formazione di ascessi a contenuto caratteristico; quella generale, cachettizzante, che si può anche avere quando la *streptothrix* non è più coltivabile e talvolta neppure visibile, sarebbe dovuta ad un veleno secreto dal parassita o proveniente dal disfacimento del parassita stesso.

Il Bellisari ha riscontrato varia la virulenza delle streptotricicee ed ha potuto esaltarla con successivi passaggi negli animali, in modo da poter provocare lesioni locali gravi ed estese, un'azione tossica generale e la morte dell'animale anche in poche ore. L'autore mette in rilievo come l'azione tossica delle streptotricicee sia

dimostrata dall'ottenuta azione rapida ed anche dalle alterazioni del fegato e del rene, che ha riscontrato nei suoi animali da esperimento.

Il Sanfelice ha isolato dall'aria due *streptothrix*, appartenenti al tipo *alba*, le quali, quantunque si presentassero perfettamente simili nei preparati microscopici, nelle culture piatte in agar e gelatina, nelle culture per strisciamento su agar e su patate, tuttavia si mostrarono, una patogena soltanto per i conigli e l'altra patogena per i conigli, per le cavie e per i cani. Nei conigli morti dopo pochi giorni ha trovato numerosi noduli miliari nei polmoni e nel fegato; in quelli, morti parecchi giorni dopo un'inoculazione endovenosa, ha visto noduli di varia grandezza nei polmoni e nel fegato, e da alcuni di questi noduli ha potuto riprendere e coltivare la *streptothrix* inoculata. In preparati microscopici fatti per strisciamento con la sostanza centrale di noduli, tolti a cani inoculati nella giugulare, ha osservato la presenza di scarsi bacilli resistenti agli acidi, simili a quelli della tubercolosi. Anche nelle culture fatte, prendendo l'innesto dai noduli dei cani, ottenne lo sviluppo del microorganismo adoperato per l'esperimento. Ha emulsionato inoltre in acqua la sostanza centrale dei focolai esistenti nelle ghiandole mesenteriali dei cani e con tale emulsione ha inoculato conigli e cavie, ottenendo la morte degli animali con lesioni pseudotubercolari dei polmoni e dei reni; in queste lesioni ha riscontrato un discreto numero di bacilli resistenti agli acidi.

L'autore stesso, praticando nei conigli e nelle cavie inoculazioni, per via endovenosa, con culture di *streptothrix violacea*, ebbe la produzione di lesioni pseudotubercolari, frequenti specialmente nei polmoni e nei reni, e la morte degli animali. Dall'esame microscopico della sostanza centrale dei noduli rilevò che la *streptothrix* non si presentava ramificata, ma a frammenti che avevano la proprietà di resistere agli acidi.

Dal Lombardo Pellegrino furono passate attraverso una serie di animali rispettivamente la *streptothrix viridis* e la *Eppinger*. Egli ha constatato che le *streptothrix* acquistavano, in seguito ai detti passaggi, una maggior virulenza; ha constatato inoltre che nel pus si trovavano spezzettate e riacquistavano il loro aspetto tipico nelle culture.

Il Lombardo Pellegrino ha provato poi il comportamento della virulenza delle *streptothrix* nel burro, nello strutto e nei grassi vegetali: la virulenza si attenua fino ad esaurirsi completamente, e gli animali inoculati con le streptotricce attenuate presentano con maggior frequenza forme di pseudotubercolosi a focolaio, anzichè di pseudotubercolosi miliare, che è la forma determinata dalle inoculazioni in vena di culture molto virulente: parecchi degli animali inoculati presentarono una semplice intossicazione senza alcuna alterazione degli organi e senza fornire un reperto positivo di culture.

Da due grossi granulomi, che erano stati tolti dalla cavità addominale di due polli, è stata isolata una streptotricea che fu studiata dalla Rossi. Questa *streptothrix*, appartenente al gruppo delle albe, presentava, nei granulomi, il tipico ce-spuglio actinomicotico e fu isolata dai granulomi stessi sotto forma di batteriacea tipica; assunse la forma propria, caratteristica, nelle culture vecchie.

La Rossi ha studiato con inoculazioni nei conigli e nei polli l'azione di brodo-culture della detta *streptothrix*: inoculando i conigli per via sottocutanea, ebbe in

qualche animale la morte dopo un mese circa; non trovò fatto alcuno nel sito dell'inoculazione, soltanto alquanto ingrossate le ghiandole vicine, che diedero nelle culture risultati negativi; inoculando nella cavità peritoneale dei conigli, ha ottenuto qualche volta la formazione di noduli a contenuto purisimile nell'omento, ma non ha ottenuto, all'esame microscopico e culturale, i germi inoculati; nei polli, con inoculazioni per via sottocutanea, ha ottenuto noduli quanto un acino di miglio, piuttosto duri, costituiti da un detrito amorfo, nel quale non ha visto alcuna forma parassitaria.

Caminiti ha trovato nella sua *streptothrix*, isolata dall'aria di un ospedale di Napoli, una spiccata proprietà piogena. Egli, con inoculazioni per diverse vie, ebbe la morte degli animali in un tempo variabile da 50 ore a 65 giorni e più: inoculando nel sottocutaneo ottenne raccolte, variamente grandi, pastose, di colorito bianco-giallastro, con fenomeni reattivi circostanti; per via endopleurica, vide svilupparsi pleurite purulenta con grandi masse fibrinose e, nella maggior parte delle volte, con propagazione del processo all'altra pleura; per altre vie ebbe noduli di varia grossezza, da molto piccoli al volume di un chicco di grano nel polmone e di un pisello nel fegato, dove una volta ne trovò uno quanto un grosso cece. I noduli, tranne gli antichi, erano senza limitazione nei tessuti vicini: erano costituiti essenzialmente da un'infiltrazione di leucociti polinucleati, degenerati ed i più in via di disfacimento granulare, da granuli abbondanti, da detriti e brandelli di tessuto spezzettato tra essi: nei noduli più grossi e, specialmente, più antichi si osservavano fatti degenerativi e distruttivi più spiccati nella parte centrale che nelle altre parti. Le forme ottenute erano forme di ascessi, erano forme di pioemia. Nei noduli il parassita si presentò in forma di piccoli filamenti spezzettati, con ramificazioni. Si poté prendere e coltivare di nuovo dai singoli noduli la *streptothrix*, la quale fu presa pure e trovata virulenta nel sangue degli animali morti dopo breve tempo dall'inoculazione.

Da Isaia, facendo l'esame batteriologico di un'acqua potabile, fu isolata una *streptothrix*, simile per i caratteri morfologici e culturali all'*albido flava* di Rossi Doria, ma diversa per il potere patogeno nelle cavie. La prova dell'azione patogena, sperimentata con la detta *streptothrix* nelle cavie, nei conigli e nei cani, riuscì positiva soltanto nelle cavie. In seguito all'inoculazione, nel sottocutaneo delle pareti addominali, di una cultura in brodo si sviluppò nel sito d'inoculazione una formazione che raggiunse il volume di una noce avellana e che, all'esame istologico, si presentò così costituita: nella parte periferica della nuova formazione si notavano cellule connettivali a tipo embrionale insieme a ricca infiltrazione leucocitaria: più internamente le cellule avevano l'aspetto di cellule endoteliodi, e nella parte centrale si trovava un detrito informe, granuloso, che fissava male la sostanza colorante; le cellule della zona media erano sostenute da un fine reticolo connettivale e fra esse si scorgevano vasi di neoformazione: in mezzo alle cellule endoteliodi si notavano pure cellule più voluminose polinucleate e qualche cellula granulosa con granuli protoplasmatici fortemente tinti in bleu; nella zona delle cellule endoteliodi Isaia ha riscontrato col metodo di Gram filamenti intrecciati e ramificati della *streptothrix* e abbondanti ammassi di granuli.

Pandolfini ha pubblicato recentemente un caso di pseudotubercolosi dei retti addominali nell'uomo, nel quale caso, all'esame istologico, fu trovato un tessuto di struttura simile a quella dei granulomi tubercolari, con filamenti, variamente disposti ed intrecciati, di *streptothrix*. Con frammenti di tessuto, presi durante l'atto operativo eseguito, egli praticò inoculazioni ed ottenne, nelle cavie, morte spontanea dopo quattro mesi e noduli pseudotubercolari nel peritoneo, nel fegato, nella milza e nei polmoni: in questi noduli furono riscontrati i filamenti di *streptothrix*.

Dopo la rassegna delle forme anatomico-patologiche ottenute sperimentalmente con le streptotricce, merita un riguardo speciale la loro azione tossica.

Mac Callum, iniettando nei conigli brodoculture filtrate ed estratti glicerici di una *streptothrix asteroides* molto attiva, ottenne soltanto un passeggero aumento della temperatura.

Déléarde ha isolato, per mezzo della glicerina, dalle culture filtrate delle streptotricce una sostanza proteica, che ha chiamato *streptothricina* e che rimane senza effetto iniettata negli animali sani.

Che le streptotricce abbiano un'azione tossica, ha creduto di poterlo asserire il Bellisari, fondandosi sulla morte rapida degli animali inoculati con streptotricce a virulenza esaltata e sulle alterazioni riscontrate nel fegato e nei reni.

Il Biagi ha sperimentato iniettando nel sottocutaneo e nelle vene dei conigli il filtrato di brodoculture, nonché estratti nucleoproteidici di alcune streptotricce: gli estratti erano ottenuti col metodo Lustig-Galeotti da una grande quantità di massa batterica, formatasi in grandi fiaschi di brodo tenuti per 30 giorni circa nel termostato a 35°-37°C. Dai suoi esperimenti il Biagi conclude che gli animali morivano per un veleno ad azione marantica, contenuto nel corpo delle *streptothrix* e con ogni probabilità per azione del nucleoproteide, da lui isolato, quantunque tale nucleoproteide non avesse un potere tossico rilevante.

La Rossi ha provato sugli animali l'azione dei filtrati delle brodoculture e degli estratti del corpo della *streptothrix*, che ha studiato e che ha denominato *streptothrix alba* var. tossica: ha rilevato che i prodotti solubili delle culture in brodo erano del tutto atossici e gli estratti eteroalcoolici, nucleoproteidici, nucleinici, non avevano alcuna azione sporifica; però gli estratti acquosi e, più ancora, gli estratti alcooliche delle culture sporificate, che si erano sviluppate su patate e su carote, si mostrarono forniti di azione tossica per i conigli, le cavie, i cani e i topi.

* * *

Per portare un contributo sperimentale alla conoscenza delle streptotricce e, più d'ogni altro, per provare sugli animali l'azione delle *streptothrix* che vivono di vita saprofittica nell'ambiente, cominciai coll'isolare alcuni stipti di streptotricce. Pensando come esse si trovino facilmente ed abbondanti sulle reste delle spighe di grano, mi giovai dei detriti di tali reste per l'isolamento; e potei ottenere sei stipti di *streptothrix*, tra cui due violacee ed una cromogena, che diedero reperti interessanti.

Dei diversi stipiti ho studiato, all'esame microscopico, la forma ed il comportamento rispetto ai metodi di colorazione; ho fatto pure l'esame culturale di ogni stipite.

All'esame microscopico riscontrai la nota forma delle streptotricce, rappresentata da filamenti intrecciati e ramificati; questi filamenti, invecchiando le culture, presentavano una frammentazione man mano crescente, di modo che nei preparati microscopici si notava un numero, man mano più abbondante, di filamenti spezzati, di forme bacillari e di forme a granuli cocciformi.

Tutti gli stipiti presi in esame, si colorarono bene col Gram, ed io riporto due figure (fig. 3 e 4 della tav. I), che furono tratte la prima da un preparato di brodocoltura di 12 giorni e la seconda da un preparato di cultura sporificata, seminata da 25 giorni su patata: la brodocoltura e la cultura su patata appartenevano allo stesso stipite di *streptothrix violacea*: il materiale per il preparato della cultura su patata fu preso strisciando coll'ansa di platino sulla superficie della cultura stessa.

Volendo provare le due violacee e la cromogena per la resistenza agli acidi, le ho trattate col metodo tipico Ziehl-Neelsen per i bacilli tubercolari: sia le due violacee che la cromogena non si sono dimostrate mai resistenti agli acidi, e ciò in molti preparati con materiale preso da culture di diversa età; ho adoperato, inoltre, come decolorante, una diluizione accentuata dell'acido; ho adoperato pure il metodo di Beretsnew, consistente nella decolorazione con acido solforico al 5 % senza susseguente lavaggio in alcool: ma in tutti i modi il reperto è stato negativo, l'acidoresistenza è mancata.

Riferendomi alla classificazione delle streptotricce, proposta dal Sanfelice, le mie due violacee, mancando della resistenza agli acidi, non potrebbero essere comprese nel terzo gruppo, rappresentato dalla *streptothrix violacea*, al quale appartengono forme resistenti agli acidi *in toto*; non potrebbero essere classificate nel secondo gruppo per la mancata acidoresistenza e per la colorazione fornita nei terreni di cultura; e per questa colorazione non potrebbero appartenere al primo gruppo, rappresentato dalla *streptothrix alba* e con forme che presentano nelle culture un colorito che va dal bianco al grigio.

Le due *streptothrix* violacee mostrarono caratteri uguali, e solo una aveva uno sviluppo più lento nei terreni di cultura e specialmente difficile e più lento sulle patate.

La *streptothrix* cromogena dovrebbe trovar posto nel secondo gruppo della classificazione del Sanfelice, nel gruppo rappresentato dalla *streptothrix flava*; ma la mia cromogena non è acidoresistente, e il gruppo della *streptothrix flava* comprende forme resistenti parzialmente alla decolorazione con acido solforico o con acido nitrico.

Il fatto della mancata acidoresistenza dei tre stipiti esaminati, che si identificano per i caratteri culturali con altre forme, che l'hanno presentata, mi porta alla considerazione che anche la resistenza delle streptotricce alla decolorazione cogli acidi è un carattere variabile.

Relativamente all'esame culturale delle due violacee, debbo notare che, mentre una delle due streptotricce ha presentato colorazione ardesiaco-violacea nelle culture

in agar e colorito violetto nelle culture su patate, l'altra ha mostrato colorito ardesiaco-violaceo nelle culture in agar, colorito violetto nelle culture su patate e, per due volte, sulla patata, alcune zone di colorito giallo-aranciato: questo colorito, dopo alcuni giorni dalla sua comparsa, è stato ricoperto da un'efflorescenza bianca; le patate erano state bollite in soluzione di carbonato sodico 1 % e presentavano reazione alcalina. Riporto due disegni (v. fig. 1 e fig. 2 della tav. I) di culture della seconda *streptothrix*, che è quella stessa, di cui presento due figure ricavate all'esame microscopico: dai due disegni, che rappresentano culture su patata, seminate da un mese, si rileva la diversa colorazione, della quale sopra ho tenuto parola.

In quanto all'azione delle tre *streptothrix*, inoculate negli animali d'esperimento, ho ottenuto reperti distinti, formazioni anatomo-patologiche diverse, e di esse riferirò con dettaglio.

Ho fatto sino ad ora esperimenti sulle cavie e sui conigli, ed ho sperimentato, sopra un grande numero di animali, con dodici stipti di streptotricce, le sei isolate da me ed altre sei che mi furono gentilmente fornite dal prof. Sormani della Università di Pavia e dal dott. Sampietro dell'Istituto d'igiene di Roma.

I reperti migliori ho ottenuto con le tre streptotricce, di cui ho tenuto sopra particolare menzione, e quindi su di essi mi sono fermato per lo studio anatomo-patologico delle lesioni.

Ho fatto le inoculazioni nel sottocutaneo; sulle ossa, lasciando intatto o togliendo, per una certa zona, il periostio; e per via endoperitoneale: ho adoperato in tutti i casi da 1 cmc. a 2 del materiale preparato.

Per le inoculazioni nel sottocutaneo e nella cavità peritoneale mi sono servito di una comune siringa ed ho preparato il materiale dalle brodoculture giovani, che cercavo di distribuire in tutto il brodo con lo scuotimento delle provette e tritutando le culture in un piccolo mortaio sterilizzato: altro materiale ho preso dalle culture su patate, strisciando con l'ansa di platino sulla superficie della cultura inumidita con soluzione fisiologica, e questo materiale distribuivo in brodo sterile tritutandolo, come sopra per le brodoculture, nel mortaio.

Per gli esperimenti sulle ossa, preparato l'animale opportunamente, incidendo le parti molli fino all'osso in corrispondenza dell'angolo della mandibola o nella regione interna della coscia, e sull'osso, privato o no per una certa zona dal periostio, depositavo un po' di brodocultura; suturavo quindi con catgut i muscoli soprastanti e la cute.

Pensando poi che talvolta, nelle affezioni da streptotricce degli uomini e degli animali, sono state trovate reste di cereali, e pertanto alla possibilità che tali reste possano agevolare l'azione patogena delle *streptothrix*, ho fatto altre serie di esperimenti sulle cavie e sui conigli: questi esperimenti ho fatto nel sottocutaneo e sulle ossa: nei primi, preparato opportunamente l'animale, incidendo la cute nella regione crurale o nella regione ascellare e, praticata una tasca, lateralmente alla incisione, depositavo nel tessuto sottocutaneo frammenti di reste di grano, sterilizzati all'autoclave, e cultura di *streptothrix*: nel secondo ordine di esperimenti procedevo come negli altri esperimenti sulle ossa, di cui ho parlato sopra, aggiungendo però alla brodocultura alcuni frammenti sterilizzati di reste di grano.

Gli animali sono morti spontaneamente o sono stati sacrificati a varia distanza di tempo dall'inoculazione, cioè da pochi giorni a tre mesi dall'inoculazione.

In seguito alle inoculazioni delle culture di *streptothrix violacea* nel sottocutaneo e sulle ossa ho riscontrato lesioni locali e, talvolta, lesioni in organi distanti; con le inoculazioni sulle ossa ho avuto reperti consimili a quelli ottenuti per via sottocutanea; con le inoculazioni endoperitoneali si sono prodotte forme diffuse in organi della cavità addominale e diffuse anche al polmone.

In seguito alle inoculazioni sottocutanee di *streptothrix violacea*, che facevo nella parete addominale e nelle regioni crurali, non sono comparse, alcune volte, lesioni locali apprezzabili all'ispezione ed alla palpazione, altre volte si sono verificate lesioni diventate dopo pochi giorni evidenti con la formazione di noduli, che si delimitavano dai tessuti circostanti, a superficie liscia, con forma rotondeggiante, volume variabile, consistenza fibroso-elastica. Tali noduli andavano man mano crescendo e spesso, dopo una quindicina di giorni dalla loro comparsa, assunto il volume di un cece, cominciavano a diminuire di volume fino a scomparire completamente: alcune volte finivano per aderire alla cute e a provocarne l'ulcerazione, da cui veniva fuori un materiale biancastro o bianco-giallastro, cremoso, puruloide. Le ghiandole linfatiche vicine, anche quando non era avvenuta ancora l'ulcerazione dei noduli, si sono mostrate ingrossate. Nei casi, in cui l'infezione non era limitata soltanto nel sottocutaneo, ho trovato ingrossate le ghiandole linfatiche del mesenterio; ho trovato poi, talvolta, noduli più o meno numerosi e di volume variabile, da una testa di spillo a un grosso pallino di piombo, nel fegato, nella milza e nel polmone.

Con le inoculazioni sulle ossa ho avuto reperti locali simili a quelli ottenuti per via sottocutanea e l'ingrossamento delle vicine ghiandole linfatiche.

Con le inoculazioni endoperitoneali sono comparsi noduli diffusi nell'omento, nella milza, nel fegato, nelle ghiandole linfatiche del mesenterio e nel polmone: i noduli erano di colorito biancastro o bianco-giallastro, di volume variabile, da una testa di spillo a un grosso pallino di piombo.

In seguito alle inoculazioni di *streptothrix cromogena* nel sottocutaneo addominale o delle regioni crurali ho notato raramente la produzione di noduli; ho constatato l'aumento di volume delle ghiandole linfatiche vicine e, qualche volta, delle ghiandole mesenteriche.

Rare volte pure sono comparsi noduli con le inoculazioni della detta *streptothrix* sulle ossa, noduli che erano accompagnati da ingrossamento delle ghiandole linfatiche vicine.

I noduli sottocutanei, comparsi, hanno cominciato sempre, dopo una quindicina di giorni, a diminuire di volume e, lasciandoli in sito, dopo venticinque giorni circa sono scomparsi completamente; nessuna volta ho osservato l'aderenza dei noduli alla cute soprastante e l'ulcerazione della cute stessa.

Con le inoculazioni endoperitoneali ho constatato la formazione di noduli diffusi nell'omento, nella milza, nel fegato e nelle ghiandole linfatiche del mesenterio: questi noduli si presentano di colorito bianco-madreperlaceo, di volume variabile, da una testa di spillo ad una lenticchia.

Ebbi rare volte la morte spontanea degli animali in seguito alle inoculazioni di *streptothrix* cromogena; gli animali, morti spontaneamente, erano stati inoculati nella cavità peritoneale.

All'autopsia degli animali uccisi o morti spontaneamente ho preso subito e messo a fissare i pezzi che interessavano per l'esame istologico: come fissativi ho adoperato il liquido di Zenker, il sublimato acetico e l'alcool assoluto; per la colorazione delle sezioni ho adoperato specialmente l'ematosilina ed eosina o l'emallume ed eosina: ho trattato pure le sezioni col metodo di Gram.

All'esame istologico dei pezzi, tolti agli animali inoculati con *streptothrix* violacea, ho constatato fatti di necrobiosi e necrosi degli elementi cellulari circostanti al materiale d'inoculazione, la comparsa di un'essudazione flogistica, nonchè lo sviluppo di un tessuto di granulazione con cellule endotelioidi e cellule giganti polinucleate.

Riporto l'esame di un nodulo sottocutaneo bene sviluppato e distinto dai tessuti circostanti (v. fig. 1 della tav. II). In esso si riscontra l'esistenza di una zona centrale, costituita da granuli, da corpi a forma rotondeggiante ed allungata, da filamenti ramificati e non ramificati: in questa zona centrale si osservano pure residui cellulari, cellule in preda a processi degenerativi e necrotici.

Alla periferia della zona centrale descritta si riscontrano numerosi leucociti.

Più all'esterno, un'altra zona è costituita da grandi cellule (v. fig. 2 della tav. II) e da cellule più piccole a forma poliedrica, con uno, due ed anche più nuclei rotondi od ovali (v. fig. 3 della tav. II). Queste cellule hanno i caratteri delle cellule endotelioidi. In mezzo ad esse stanno sparsi numerosi vasi di nuova formazione. Le cellule endotelioidi più centrali presentano spesso, fagocitati nel loro protoplasma, alcuni granuli; talvolta, inoltre, alcune di esse si vedono a fondersi insieme e costituire una grossa cellula polinucleata. Hanno, per sostegno, uno scarso e delicato reticolo connettivale. Presentano ancora, qua e là, cellule giganti, di forma irregolare, con citoplasma finamente granuloso e parecchi nuclei, di forma rotonda od ovale, disposti perifericamente (v. fig. 3 della tav. II).

Al di fuori della zona di cellule descritta, si nota una zona di cellule connettivali a tipo embrionale (v. fig. 4 della tav. II).

All'esame dei pezzi ho trovato alcune volte che il processo, invece di delimitarsi con la organizzazione del tessuto connettivale circostante, assumeva un'azione invadente, provocando la necrosi delle zone di granulazione e la ripetizione, oltre che dei processi di necrobiosi e necrosi, anche del processo flogistico e del processo cellulare proliferativo.

In tal modo i focolai di rammollimento hanno potuto progredire fino ad invadere la cute e dar luogo alla fuoruscita di una sostanza biancastra o bianco-giallastra cremosa. Quando il processo non aveva azione invadente, il nodulo, raggiunto un certo sviluppo, cominciava a diminuire di volume e poi scompariva lasciando un ispessimento connettivale.

Ho tentato parecchie volte di ottenere ed ho ottenuto in culture per via aerobia, dai noduli estirpati, le streptotrici inoculate negli animali da esperimento.

Con materiale, preso dai noduli ottenuti in animali inoculati con *streptothrix*

violacea, ho fatto innesti in altri animali ed ho potuto constatare in questi la trasmissibilità, lo sviluppo dell'infezione.

Le formazioni, ottenute negli animali con le inoculazioni di *streptothrix* cromogena, hanno presentato caratteri istologici alquanto diversi rispetto alle formazioni prodotte dalla *streptothrix violacea*.

Nei noduli ottenuti con la *streptothrix* cromogena ho potuto notare l'esistenza di una zona centrale granulare con forme filamentose, che scomparivano abbastanza presto, con leucociti in via di degenerazione o ancora conservati, e tutto attorno tessuto connettivo di nuova formazione, che veniva a costituire una capsula attorno al materiale granuloso.

Non ho riscontrato mai, nei focolai, or ora ricordati, un'azione invadente rispetto ai tessuti circostanti, e la loro evoluzione è stata sempre verso la riduzione e la scomparsa.

Oltre a ciò, in tutte le culture fatte con materiale dei noduli, non ho avuto mai lo sviluppo della *streptothrix* inoculata.

Non mi è stato possibile altresì di trasmettere l'infezione da animale ad animale col materiale dei noduli.

Vi sono quindi, tra le streptotricce, alcune forme capaci di determinare negli animali da esperimento processi flogistici, che possono arrestarsi e guarire spontaneamente e possono anche diffondersi: altre forme, invece, a virulenza ridotta o mancante, agiscono localmente, dove arrivano, in maniera simile a corpi estranei, determinando una reazione dei tessuti circostanti, fino a rimanere sequestrati e distrutti.

Le streptotricce, oltre all'azione locale, hanno, come è stato dimostrato da diversi autori, un'azione generale tossica, che può uccidere gli animali in breve tempo o in un'epoca tardiva, determinando alterazioni gravi in organi importanti: l'azione tossica è dovuta a tossine contenute nel corpo batterico; anche le streptotricce, che si comportano in modo simile a corpi estranei, possiedono, come ha dimostrato il Biagi, potere tossico.

Negli esperimenti con cultura di *streptothrix* e reste di grano non ho avuto particolari risultati, nulla ho potuto rilevare in rapporto ad un'azione maggiore, spiegata dal germe, per la presenza del corpo estraneo.

Dagli esperimenti fatti fino ad ora ho potuto ricavare fatti interessanti relativamente all'azione spiegata dalle streptotricce sugli animali da esperimento; ho potuto inoltre rilevare nuovi dati sul comportamento delle stesse streptotricce nei terreni di cultura e rispetto agli acidi nei metodi di colorazione.

Posso pertanto stabilire le seguenti conclusioni:

1° Alcune streptotricce (nei miei esperimenti i due stipiti di *violacea*) dimostrano virulenza e producono, negli animali da esperimento, forme infiammatorie granulomatose.

2° Altre streptotricce (nei miei esperimenti una cromogena) hanno scarsa o nessuna virulenza e presentano in mezzo ai tessuti un comportamento simile a quello di un corpo estraneo.

3° La presenza delle reste di grano nel sito d'inoculazione non esercita una influenza rilevabile sull'azione delle streptotricce inoculate.





Fig. 1

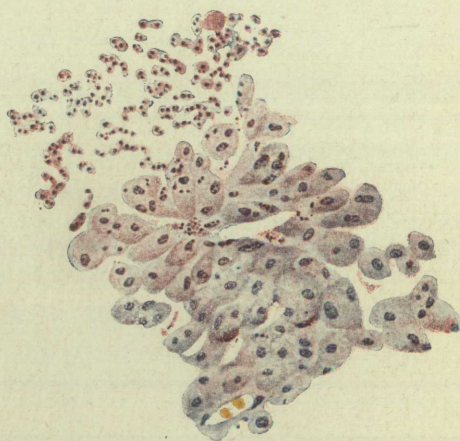


Fig. 2

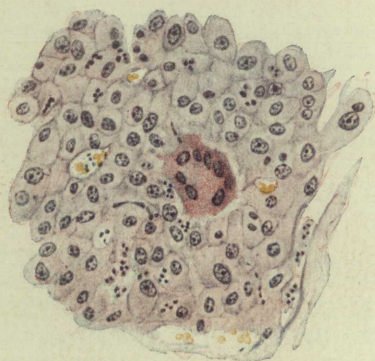


Fig. 3

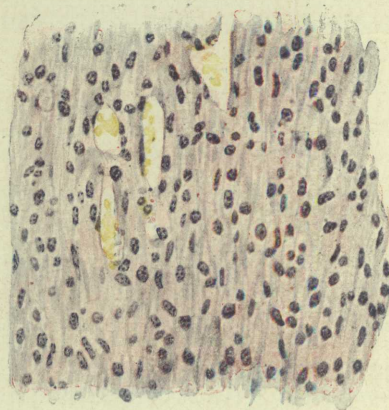
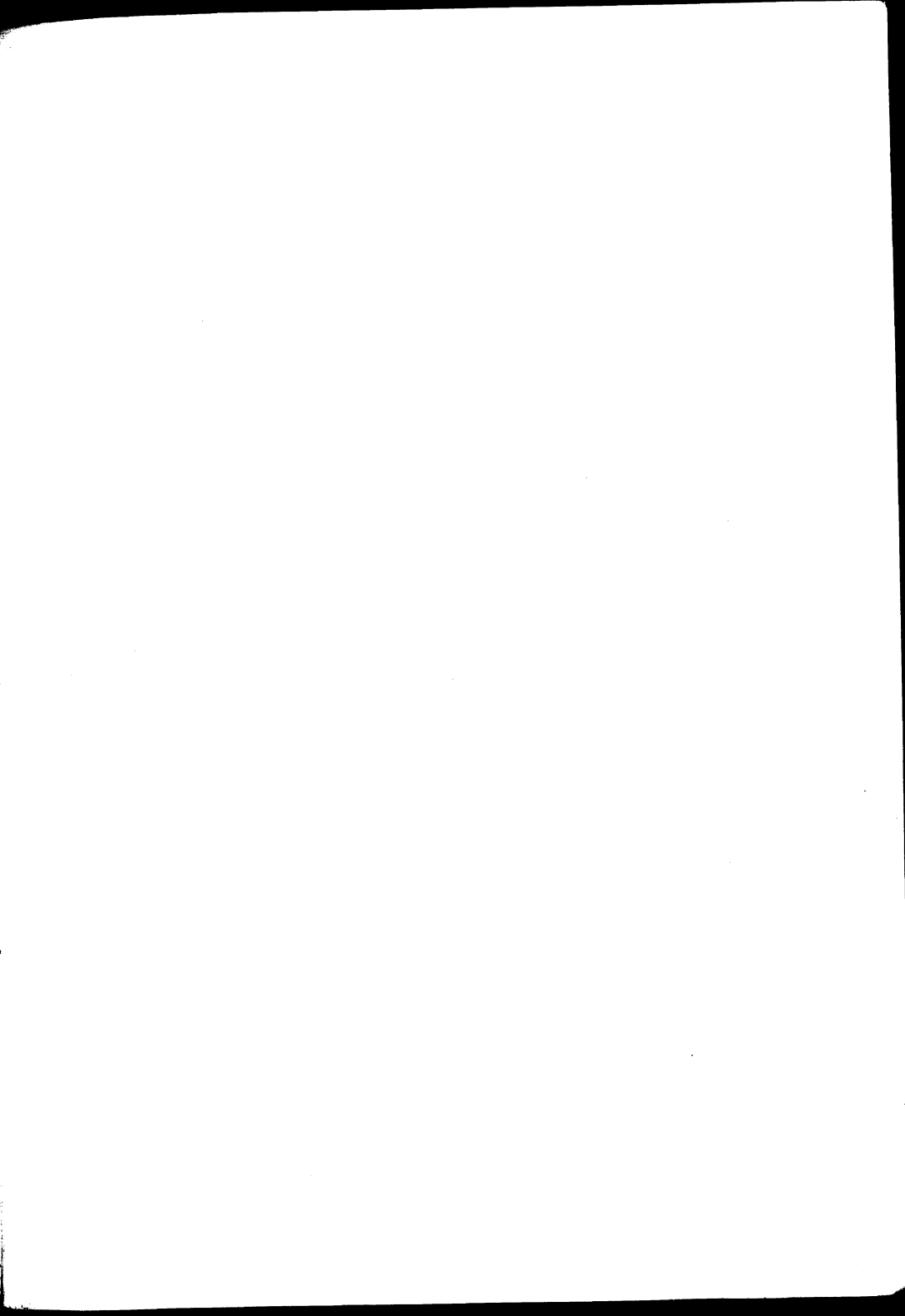


Fig. 4



IL POLICLINICO

PERIODICO DI MEDICINA, CHIRURGIA E IGIENE

DIRETTO DAI PROFESSORI

GUIDO BACCELLI | FRANCESCO DURANTE

DIRETTORE DELLA R. CLINICA MEDICA
DI ROMA

DIRETTORE DEL R. ISTITUTO CHIRURGICO
DI ROMA

con la collaborazione di altri Clinici, Professori e Dottori italiani e stranieri
si pubblica in tre Sezioni distinte:

Medica — Chirurgica — Pratica

IL POLICLINICO

chirurgia e dell'igiene.

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

LA SEZIONE PRATICA

movimento delle scienze mediche in Italia e all'estero. Pubblica perciò numerose e accurate riviste su ogni ramo delle scienze suddette, occupandosi soprattutto di ciò che riguarda l'applicazione pratica. Tali riviste sono fatte da valenti specialisti.

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

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

Pubblica articoli e quadri statistici intorno alla mortalità e alle malattie contagiose nelle principali città d'Italia, e dà notizie esatte sulle condizioni e sull'andamento dei principali ospedali.

Pubblica le disposizioni sanitarie emanate dal Ministero dell'Interno, potendo esserne informato immediatamente, e una scelta e accurata Giurisprudenza riguardante l'esercizio professionale.

Pubblica in una parte speciale tutte le notizie che possono interessare il ceto medico: Promozioni, Nomine, Concorsi, Esami, Condotte vacanti, ecc.

Tiene corrispondenza con tutti quegli abbonati che si rivolgeranno al *Policlinico* per questioni d'interesse scientifico, pratico e professionale.

A questo scopo dedica una rubrica speciale e fornisce tutte quelle informazioni e notizie che gli verranno richieste.

IL POLICLINICO

contiene ogni volta accurate recensioni bibliografiche, e un indice di bibliografia medica, col titolo dei libri editi recentemente in Italia e fuori, e delle monografie contenute nei Bollettini delle Accademie nei più accreditati periodici italiani ed esteri.

A questo proposito si invitano gli autori a mandare copia delle opere e delle monografie da loro pubblicate.

LE TRE SEZIONI DEL POLICLINICO

adunque, 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 i più completi possibili e che meglio rispondono alle esigenze dei tempi moderni.

ABBONAMENTI ANNUI:

	Italia	Unione postale
1. Alla sezione medica e alla sezione pratica . . .	L. 15	23
2. Alla sezione chirurgica e alla sezione pratica . .	15	23
3. Alle tre sezioni insieme	20	30
4. Alla sola sezione pratica	10	15

Un num. separato della **sezione medica o chirurgica Lire UNA**

Un num. separato della **sezione pratica cent. 50.**



Gli abbonamenti cominciano a decorrere dal primo di gennaio di ogni anno.

Il *Policlinico* si pubblica sei volte il mese.

La **sezione medica** e la **sezione chirurgica** si pubblicano ciascuna in fascicoli illustrati di 48 pagine, che in fine di anno formano due distinti volumi.

La **sezione pratica** si pubblica una volta la settimana in fascicoli di 32 pagine.