

FATICHI Dott. GIUSEPPE

CONTRIBUTO

ALLO STUDIO

DEGLI PNEUMOCOCCHI

LAVORO FATTO NEL LABORATORIO DI ANATOMIA PATOLOGICA DI FIRENZE

SOTTO LA DIREZIONE

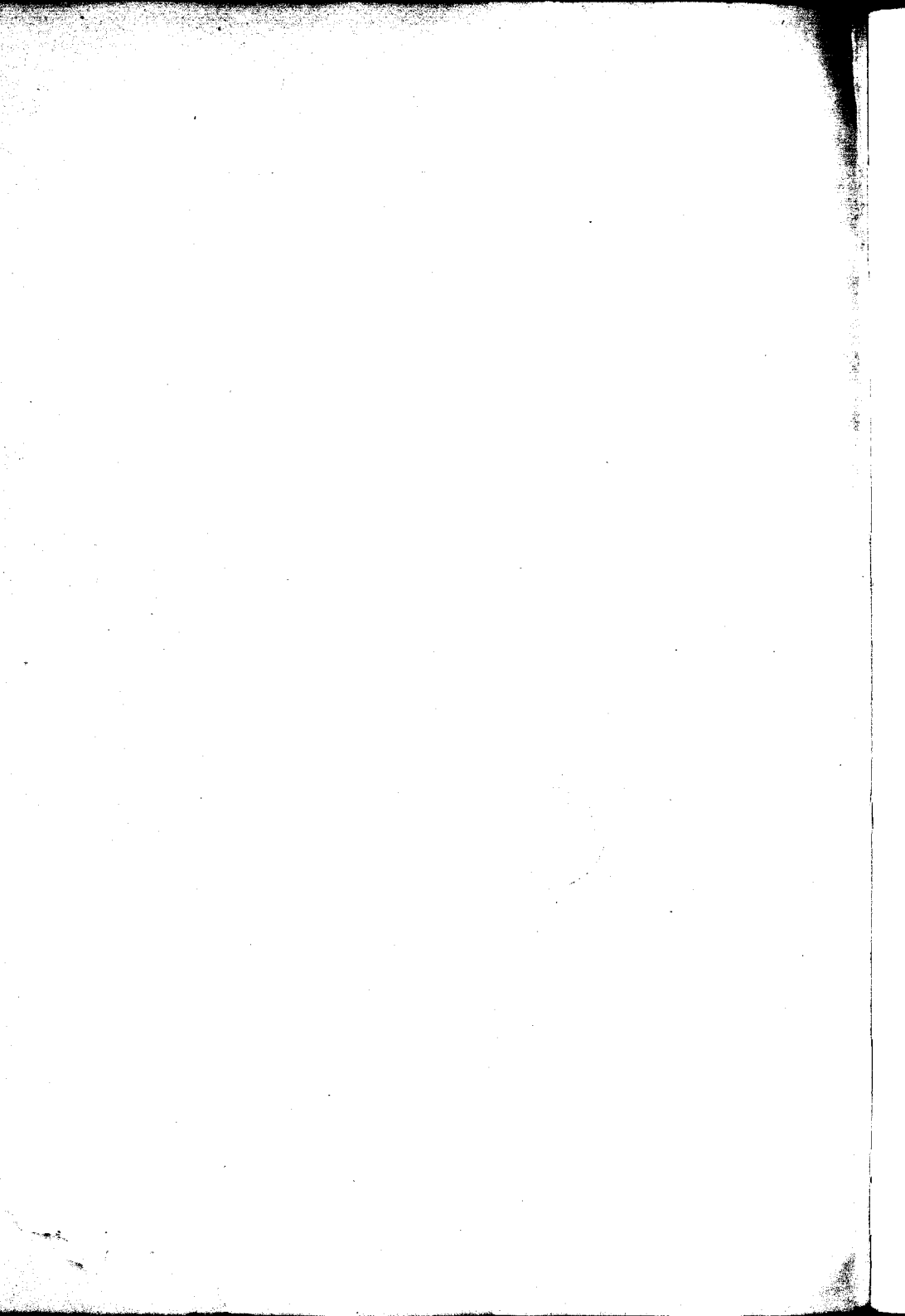
DEL DOTT. GUIDO BANTI



FIRENZE

TIPOGRAFIA CENNINIANA

1886



FATICHI Dott. GIUSEPPE

CONTRIBUTO

ALLO STUDIO

DEGLI PNEUMOCOCCHI

LAVORO FATTO NEL GABINETTO DI ANATOMIA PATOLOGICA DI FIRENZE

SOTTO LA DIREZIONE

DEL Dott. GUIDO BANTI



FIRENZE

TIPOGRAFIA GENNINIANA

—
1886

Dal Giornale Medico **Lo Sperimentale** — Settembre 1886
1036. Firenze. Tip. Cenniniana.

È noto come da varii anni si sospettasse per prove cliniche la natura infettiva della pneumonite fibrinosa, quando con ricerche sperimentali si cercò di convalidare tale teoria. In Italia, in Francia, in Germania s'intrapresero studii assai importanti in proposito, i quali però io mi astengo dal citare e dall'analizzare, poichè in questa breve memoria non debbono venire esposti che i risultati di una serie di esperimenti fatti nel Gabinetto di Anatomia Patologica di Firenze.

Per la chiarezza dell'argomento e per evitare possibili confusioni sono costretto però a riassumere in poche parole lo stato attuale delle nostre cognizioni sull'etiologia della pneumonite.

È indubitabile che nell'essudato delle pneumoniti fibrinose nel periodo di acuzie si trovi uno speciale microrganismo con molta esattezza descritto dal Friedländer (1) e ch'è rappresentato da un cocco ovalare, riunito ad altri simili in forma di diplococco o di catenella e circondato da una capsula di sostanza di apparenza mucosa.

Il Friedländer eseguì culture con l'essudato pneumonico secondo i metodi più moderni e riuscì a isolare l'organismo da lui descritto e che presenta i seguenti caratteri morfologici e biologici:

a) forma in generale di cocco ovalare, ma non di rado anche, in specie nelle culture, di bastoncino allungato;

b) presenza di una capsula di sostanza mucosa, la quale però manca nelle culture;

(1) Virchow's Archiv, 1882. — Fortschritte der Medicin, 1883.

c) sviluppo sulla gelatina nutritiva alla temperatura di 20°-24° C.; non liquefa la gelatina; la cultura prende la forma di chiodo il cui capo convesso fa sporgenza alla superficie della sostanza nutritiva;

d) non ha azione patogena sui conigli; le cavie ed i topi soccombono invece quasi costantemente ed il loro sangue contiene in gran numero le medesime forme capsulate.

Tralascio tutti gli esperimenti fatti per riprodurre negli animali la pneumonite.

Il Fränkel (1) ha descritto nell'essudato pneumonico un batterio uguale per la forma a quello del Friedländer, ma dal quale differisce notevolmente per altri caratteri.

Eccone le proprietà principali:

a) forma costante di cocco ovale, mai di bastoncino, nemmeno nelle culture;

b) presenza di una capsula di sostanza mucosa, la quale manca nelle culture;

c) non si sviluppa sulla gelatina; si sviluppa nel miglior modo sul siero di sangue rappreso alla temperatura di 30°-35° C., ove forma uno straterello delicatissimo, simile per l'aspetto a piccole gocce di rugiada;

d) non ha azione patogena sulle cavie e sui topi; uccide con prontezza i conigli, nel cui sangue si trovano in numero straordinario i cocchi capsulati riuniti a diplococchi o a catenella.

Il Fränkel attribuisce a questi cocchi lo sviluppo della pneumonite. È indubitabile che simile forma fu descritta per l'innanzi da altri osservatori, (Talamon, Griffini ecc.) ma al Fränkel spetta il merito d'averla studiata in modo più preciso e con metodi più perfetti.

In conclusione, nell'essudato pneumonico esistono due specie di pneumococchi, che con l'esame microscopico non si riesce a differenziare, ma che si comportano in modo affatto diverso per le altre proprietà. Un vasto campo di ricerche rimane aperto per determinare i loro rapporti con la flogosi polmonare.

Ad incitamento del Dott. G. Banti stabilii di intraprendere una serie di ricerche per determinare:

1° quale tra le due forme sia la più costante nei casi di pneumonite fibrinosa in Firenze;

(1) Deutsche med. Wochenschrift, 1885, p. 546. — Zeitschrift für klinische Medizin, Bd. X, H. 5 e 6.

2° se nella pneumonite si trovino contemporaneamente le due forme, oppure ora l'una, ora l'altra;

3° se e come sia possibile riprodurre negli animali la pneumonite cruposa mediante culture dei suddetti pneumococchi.

Tali ricerche furono compiute nell'inverno del 1885-86 e nei primi mesi della primavera del 1886.

*

Prima di passare oltre dirò come lo pneumococco del Fränkel sia il medesimo batterio descritto per la prima volta dal Pasteur (1) che lo trovò nella saliva d'un fanciullo morto per idrofobia. Esso produce una infezione setticoemica nei conigli, la quale viene perciò chiamata *setticoemia salivare*; si trova con la massima frequenza nella saliva dei malati di pneumonite ed anche, benchè abbastanza raramente, nella saliva di persone sane.

A meglio persuadermi di simile identità ammessa dal Fränkel e come studio preliminare, inoculai in conigli l'escreato di pneumonici durante il periodo febbrile. L'escreato veniva diluito nell'acqua e iniettato sotto la pelle del coniglio nella quantità di 2-4 c. c.

ESPERIENZA I. — Inoculazione di escreato pneumonico in grosso coniglio bigio. Morte dopo 24 ore. — Nel sangue grande quantità di diplococchi capsulati; nessun'altra forma di batterii. Essudato fibrinoso sul peritoneo contenente un numero grandissimo dei medesimi cocchi. Milza ingrossata.

ESPERIENZA II. — Inoculazione di escreato pneumonico in coniglio giovane. Morte dopo 24 ore. — Molti cocchi capsulati nel sangue; sierose sane; milza grossa.

ESPERIENZA III e IV. — Inoculazione di escreato pneumonico in coniglio giovane. Morte dopo 24 ore. — Reperto simile al precedente.

ESPERIENZA V. — Inoculazione di escreato pneumonico in coniglio adulto; viene sacrificato dopo circa 20 ore. — Nel sangue si trovano i soliti cocchi in numero scarso.

(1) Compt. Rend. de l'Acad. de Méd., 1881.

della capsula per le materie coloranti ci sfugge. È un fatto che preparati del medesimo sangue, del medesimo essudato fibrinoso, presentano le capsule ora bene ora male colorate; sembra che la colorazione avvenga meglio nei preparati appena fatti.

Il Dott. G. Banti si serve di un metodo di colorazione che dà risultati molto soddisfacenti. Dopo colorato con violetto di genziana passa per pochi istanti il vetrino nell'alcool assoluto. I cocchi rimangono ben colorati, mentre la capsula è incolore. Pone quindi il vetrino in una soluzione debole di fucsina in acqua di anilina e ve lo lascia per pochi minuti; lava nell'acqua e esamina. I cocchi sono fortemente colorati mentre le capsule hanno un colore roseo. Egli esamina il vetrino in una goccia d'acqua e non adopera la chiusura al balsamo, il quale per il suo forte potere refrangente rende la capsula indistinta. Volendo conservare il preparato adopera invece dell'acqua pura una soluzione acquosa di sublimato corrosivo all'1:4000 e chiude con bitume come si trattasse di un preparato alla glicerina.

Preparazioni così fatte da un anno si conservano tuttora inalterate.

Per bene studiare la capsula è necessario esaminare i preparati con il condensatore Abbè e l'oggettivo a immersione.

*
* *

Le indagini rivolte a riconoscere quale tra le due specie di pneumococchi, quella del Friedländer e quella del Fränkel, fosse la più frequente nell'essudato pneumonico dovevano necessariamente condurre a risolvere l'altro quesito se le due specie esistono o no al tempo medesimo nello stesso caso. Il metodo adoperato fu il seguente.

Vennero utilizzati solo quei cadaveri di pneumonici che per il freddo invernale non presentavano segni di putrefazione; fu sempre eseguita l'autopsia prima delle 24 ore, in generale dopo 15-18 ore. Tolti i polmoni veniva fatto l'esame istologico dell'essudato polmonare e pleuritico e mi assicuravo in tal guisa della presenza dei cocchi capsulati; venivano esclusi quei casi, nei quali insieme a questi si trovavano altre forme, in specie bacillari, evidentemente dovute ad un inizio di processi putrefattivi.

Dirò per incidenza che nel Gabinetto di Anatomia Patologica venne durante l'anno esaminato l'essudato in ogni caso di pneu-

monite allo stadio di epatizzazione rossa o rosso-grigia e che in tutti venne constatata la presenza di pneumococchi.

Dapprima in 5 casi feci culture in gelatina nutritiva adoperando al tempo stesso l'essudato polmonare e pleurale: l'essudato fu preso con tutte le precauzioni necessarie mediante strumenti sterilizzati ecc. Feci le culture isolanti per disseminazione (Plat-tenkulturen) che furono mantenute alla temperatura di 22°-24° C. In quattro casi le culture rimasero del tutto sterili; in un caso si svilupparono solo poche colonie di un bacillo che evidentemente erano da considerarsi come impurità accidentali.

Malgrado quindi che col microscopio si fosse constatata la presenza di numerosi pneumococchi nell'essudato, le culture in gelatina dettero risultato negativo. Ciò dimostra come quegli pneumococchi non potessero appartenere alla specie già descritta dal Friedländer.

In seguito il metodo fu così modificato. Tentavo la cultura in gelatina con l'essudato polmonare e pleurítico per riconoscere se vi era la specie del Friedländer. Con lo scopo poi di accertarmi se esistesse la specie del Fränkel vennero fatte con l'essudato polmonare iniezioni sottocutanee e introdotti frammenti di membrane pleurítiche sotto la pelle di conigli.

Avrei potuto invece tentare le culture nel siero di sangue rappreso, ma esse riescono abbastanza difficili e non permettono l'isolamento tra più specie. Invece nel coniglio si ha un terreno di cultura naturale della massima sensibilità, col quale si giunge a scoprire con sicurezza la presenza del cocco del Fränkel e ad isolarlo da altre forme, come gli esperimenti con l'escreato pneumonico avevano dimostrato. Non v'ha dubbio che se nell'essudato polmonare e pleurítico esisteva in condizioni di vitalità il cocco del Fränkel, si doveva con tal metodo giungere con sicurezza a rilevarne la presenza.

Passo ad esporre gli esperimenti eseguiti.

ESPERIENZA X. — Il 12 aprile si pongono sotto la pelle di un coniglio alcuni frammenti di membrane pleurítiche (polmonite in stadio di epatizzazione rossa.) Morte dopo 36 ore. — Numerosissimi cocci capsulati nel sangue. Milza ingrossata.

Con la stessa membrana si fa una cultura per disseminazione in gelatina nutritiva, che si tiene alla temperatura di 22° C. La cultura rimase sterile.

ESPERIENZA XI. — Con l'essudato dello stesso polmone si fa una inoculazione sottocutanea ad altro coniglio. Esso non ne risente effetti dannosi nè presenta disturbi di sorta nei giorni successivi.

Con lo stesso essudato si fa al solito la cultura in gelatina con esito negativo.

ESPERIENZA XII. — Il 18 aprile si introducono sotto la pelle di un coniglio alcuni frammenti di membrana fibrinosa pleuritica (pneumonite allo stadio di epatizzazione rossa). Morte dopo tre giorni. — Peritonite fibrinosa con numero grandissimo di cocchi capsulati nell'essudato e nel sangue. Milza grossa.

Con le stesse membrane pleuritiche si fa la cultura in gelatina con esito negativo.

ESPERIENZA XIII. — Ad altro coniglio si inocula l'essudato polmonare dello stesso polmone dell'esperienza precedente. Il coniglio non ne risente alcun disturbo.

La cultura in gelatina di questo essudato dette esito negativo.

ESPERIENZA XIV. — Il 2 maggio si introduce sotto la pelle di un coniglio un frammento di membrana pleuritica (pneumonite allo stadio di epatizzazione rossa). Morte dopo tre giorni. — Peritonite fibrinosa; cocchi capsulati in gran numero nell'essudato peritoneale e nel sangue. Milza grossa.

La cultura in gelatina fatta con le stesse membrane pleurali riuscì sterile.

Con il sangue tolto dal cuore degli animali delle esperienze X, XII, XIV, si fecero inoculazioni sul siero di sangue rappreso e si ebbe in modo tipico lo sviluppo del cocco del Fränkel quale fu già descritto: l'aspetto delle culture non presentava alcuna differenza da quelle ottenute nei conigli morti per setticoemia salivare.

In tre casi adunque di polmonite l'esperimento dimostrò la presenza del cocco del Fränkel, mentre per l'esito delle culture nella gelatina si dovette escludere la presenza del cocco del Friedländer.

L'avanzata stagione e la mancanza di casi adatti non mi dettero opportunità di ripetere in più numero le ricerche. Furono 8 i casi di pneumonite studiati; in nessuno fu trovato lo pneumococco del Friedländer; in tre fu constatato con sicurezza lo pneumococo del Fränkel. Però non è, parmi, azzardoso il dichiarare che anche negli altri 5 doveva esistere questa specie, visto che rimasero sterili le culture in gelatina, mentre l'esame microscopico dimostrava in abbondanza i cocchi capsulati, i quali

non potevano appartenere quindi che alla specie descritta dal Fränkel, poichè in modo diverso non avrebbero mancato di svilupparsi sulla gelatina nutritiva.

Ai due quesiti propostimi stando ai risultati delle citate esperienze debbo rispondere: 1° lo pneumococco del Fränkel fu in Firenze nell'inverno 1885-86 se non esclusivo certo di gran lunga più frequente di quello del Friedländer; 2° non si riuscì mai ad accertare la coesistenza delle due forme di pneumococchi.

*
* *

Sebbene per incidenza, non posso astenermi dal notare un fatto abbastanza curioso e interessante verificatosi nel corso dell'esperienze riferite. Mentre nell'esperienze X e XII l'introduzione sotto la pelle di frammenti di membrane fibrinose pleurali produsse la setticemia nei conigli, l'inoculazione dell'essudato polmonare negli stessi due casi diede esito negativo (esperienze XI e XIII). Eppure l'esame microscopico aveva mostrato la presenza di cocchi capsulati in gran numero in questo essudato, benchè si notasse come la loro colorazione riusciva meno bene. Dovendosi di necessità escludere che quei cocchi appartenessero alla specie descritta dal Friedländer rimaneva unica supposizione che quegli organismi non fossero più virulenti perchè privi di vita. Dubitando che la loro morte fosse prodotta dall'incominciare della putrefazione, più rapida negli alveoli polmonari in diretto contatto con l'aria che nella pleura, fu fatta la seguente esperienza.

ESPERIENZA XV. — Si raccoglie il sangue d'un coniglio morto per setticemia e si tiene per 24 ore in un bicchierino esposto all'aria alla temperatura di circa 30° C. Se ne inietta quindi 1 c. c. sotto la pelle d'un coniglio, il quale soccombe dopo 2 giorni. — Nel sangue si trovano in gran numero i cocchi capsulati. Milza grossa.

L'esperimento sembra non confermare che i processi di putrefazione uccidano con prontezza lo pneumococco del Fränkel. In mancanza di altre ricerche mi astengo da qualunque giudizio sopra una questione che domanda nuovi studi.

*
* *

Non avendo mai trovato lo pneumococco del Friedländer, venne cercato in una ultima serie di esperienze se col cocco del Fränkel si giungeva a riprodurre la pneumonite negli animali. Già il Fränkel stesso ha fatto ricerche in proposito: dei risultati da lui ottenuti non debbo qui occuparmi.

In queste esperienze venne adoperato per infettare gli animali non il prodotto di culture, ma il sangue di conigli di recente morti per setticoemia e nel quale l'esame microscopico aveva dimostrato la presenza esclusiva dei cocchi capsulati.

Gli esperimenti furono numerosi e variamente ripetuti: mi limito a riferirne alcuni.

Vedendo che l'inoculazione sottocutanea non aveva mai prodotto focolai pneumonici si fece l'inoculazione in trachea previa tracheotomia.

ESPERIENZA XV. — Coniglio giovane. Fatta la tracheotomia s'inietta in trachea circa $\frac{1}{2}$ c. c. di sangue: si medica con jodoformio. Morte dopo 3 giorni. — Ferita asettica. Milza ingrossata: sangue con abbondanti cocchi capsulati. Polmoni normali.

Tutti gli esperimenti fatti nella stessa guisa dettero risultati identici.

Venne provato a iniettare nel polmone alcune gocce di sangue nell'idea che il trauma apportato dall'ago potesse predisporre il polmone a risentire meglio l'irritazione del microrganismo.

ESPERIENZA XVI. — Coniglio giovane. S'iniettano alcune gocce di sangue nel polmone destro infiggendo un ago a traverso la parete toracica. Morte dopo 4 giorni. — Pleurite bilaterale: polmoni sani: milza grossa. Numerosi cocchi capsulati nel sangue e nell'essudato pleurale.

Se nei conigli sani non si riusciva a produrre le flogosi del polmone, forse perchè la reazione dell'intero organismo era troppo pronta ed energica, non si poteva tentare qualche via per indurre nel polmone uno stato di minore resistenza e favorire in quel punto la localizzazione del principio virulento? Non si poteva tentare per la pneumonite ciò che con buon esito fu già fatto per l'osteomielite infettiva, per l'endocardite ulcerosa?

Con tale concetto si ricorse al taglio unilaterale del vago, che di per sé non produce pneumonite (al contrario del taglio bilaterale) come con preventive esperienze mi persuasi.

ESPERIENZA XVII. — Coniglio robusto. Si escide un frammento del vago di destra e praticata poi la tracheotomia s'inietta nel polmone circa $\frac{1}{2}$ c. c. di sangue. Medicatura con l'iodoformio. Morte dopo 60 ore. — Ferita asettica. Milza grossa: alcune piccole ecchimosi sottopleurali: polmoni sani. Nel sangue numerosi cocchi capsulati.

Avendo in questi ed in altri simili esperimenti ottenuto un risultato negativo, si volle provare se meglio si giungesse allo scopo interponendo alcune ore tra il taglio del vago e l'inoculazione del materiale virulento.

ESPERIENZA XVIII. — Coniglio robusto. Si escide un frammento del vago sinistro e dopo 6-7 ore si pratica la tracheotomia e s'inietta in trachea circa $\frac{1}{2}$ c. c. di sangue. Medicatura con l'iodoformio. Morte dopo 2 giorni. — Ferita asettica. Milza grossa: leggera peritonite: alcune piccole ecchimosi sottopleurali. Polmoni sani. Molti cocchi capsulati nel sangue e nell'essudato peritoneale.

Credo inutile riferire altri esperimenti imperocchè in nessun caso si pervenne a riprodurre nel coniglio la pneumonite. E del resto risultati appena migliori ottenne il Fränkel.

Finora perciò la via sperimentale è rimasta impotente o quasi ad accertare l'importanza patogena che il cocco del Fränkel è capace di esercitare nell'uomo. Ma gl'inutili tentativi fatti per riprodurre la pneumonite sono un argomento bastevole per negare a questi batterii il potere di risvegliare una flogosi polmonare? Noi conosciamo abbastanza altri esempj di batterii universalmente accettati per patogeni benchè mai si sia giunti a riprodurre la malattia della quale sono specifici: per es., i bacilli della lebbra, dell'ileotifo. Quando gli animali si mostrano refrattari a contrarre certe malattie, è con argomenti indiretti che si può convalidare l'ufficio morbigeno d'un dato parassita.

Non dubito che per il cocco del Fränkel riusciranno in breve le vie di dimostrazione diretta: oggi le prove principali per considerarlo come *uno dei germi* capaci di dare luogo a pneumonite sono le seguenti:

1°. In alcuni casi di pneumonite, come risulta dalle ricerche esposte, si trova in maniera esclusiva il cocco del Fränkel. È soprattutto importante la sua presenza nell'essudato fibrinoso che ricopre la pleura poichè un microrganismo ha quivi molto minore probabilità di essere accidentale d'un altro il quale s'incontri negli alveoli del polmone in diretto contatto con l'aria atmosferica.

2°. Lo stesso cocco è stato trovato in alcune complicanze o successioni morbose della pneumonite. Il Fränkel l'ha descritto in empiemi consecutivi a pneumonite, fatto tanto più notevole in quanto gli empiemi per altre cause sembrano dovuti ai cocci della suppurazione (stafilococco e streptococco); il Fränkel stesso, il Foà e il Bordoni Uffreduzzi (1) l'hanno scoperto nell'essudato di meningiti cerebro spinali sviluppatasi nel corso di pneumoniti. Non è egli più logico ammettere in questi casi una infezione unica con localizzazioni multiple di quello che la coesistenza di due infezioni diverse?

Se il cocco del Fränkel può considerarsi con grandissima probabilità come specifico della pneumonite, ciò non significa per altro che da esso dipendano tutte le pneumoniti fibrinose. Il cocco del Friedländer e forse altri batterii non per anco ben determinati debbono prendersi in serio esame. Nello stato attuale della scienza perciò si può solo dichiarare che lo studio batteriologico delle flogosi polmonari è ben lungi dall'essere compiuto; che numerose ricerche sono ancora necessarie prima di rischiarare l'oscura etiologia di tale forma morbosa.

Nel dare termine a questo breve lavoro sento il dovere di porgere i più vivi ringraziamenti al Dott. G. Banti per i consigli e gli ajuti dei quali mi fu largo nel corso di queste ricerche. A Lui, che in tale ramo delle mediche discipline mi fu Maestro vero e solo, i sensi della mia riconoscenza.

(1) Deutsche med. Wochenschrift, 1886.



