



Il mio ammirabile amico
aveva paura che p'rispett' quel
che scritto di me
la Bietti

*Sul passaggio nel circolo sanguigno
del bacillo sottile inoculato in un
occhio e sulla sua importanza per
la teoria ematogena dell'oftalmia
simpatica*

RICERCHE SPERIMENTALI

DEL

Prof. AMILCARE BIETTI

Direttore della Clinica Oculistica della R. Università di Siena

Mrk

B

59

7



PAVIA

PREM. STABILIMENTO TIPOGRAFICO SUCCESSORI BIZZONI

1910

Sul passaggio nel circolo sanguigno del bacillo sottile inoculato in un occhio e sulla sua importanza per la teoria ematogena dell'oftalmia simpatica.

RICERCHE SPERIMENTALI

DEL

Prof. AMILCARE BIETTI

Direttore della Clinica Oculistica della R. Università di Siena

Sino dal 1906 nelle mie esperienze sull'importanza patogena dei saprofiti nelle infezioni oculari (1) aveva cercato di indagare se fra i microorganismi inoculati nell'occhio dell'animale il bacillo sottile, che si è dimostrato patogeno per quello umano, passasse nel circolo sanguigno. I risultati di quelle mie ricerche furono però allora negativi, perché non mi venne mai fatto di isolare dal sangue i germi inoculati in un occhio, sia prendendo il sangue dal cuore, come dal fegato e dalla milza.

Come risulta dalle esperienze, ch'io riportai nella mia pubblicazione, per questi conigli in cui aveva fatto l'esame batteriologico dal sangue, io aveva inoculato nella camera anteriore culture diluite o non diluite. Con ognuna di queste esperienze era riuscito a provocare nell'occhio dell'animale una notevole reazione ed anche nei casi in cui questa fu meno intensa, la cornea presentava una certa infiltrazione, che in un occhio andò aumentando nei giorni successivi, per modo che a mala pena si poteva intravedere il contenuto della camera anteriore e l'iride. In altri due occhi l'infiltrazione corneale fu ancora maggiore e si ebbe

(1) *Bietti.* -- I saprofiti nelle infezioni dell'occhio. — Annali d'oftalmologia. Anno XXXV, 1906.

perforazione di questa membrana. Nell' iride e nel corpo ciliare si manifestò in ogni animale un vero processo infiammatorio, colla formazione di un essudato plastico nel campo pupillare. Nei casi più gravi questi fenomeni erano accompagnati da chemosi congiuntivale e da tumefazione più o meno pronunziata delle palpebre.

All'esame microscopico degli occhi enucleati riscontrai, in ogni caso, un'infiltrazione della cornea. L' iride si presentava infiltrata ed anche rigonfia ed aderente, per un'estensione diversa a seconda dei casi, alla cristalloide. Nei casi più gravi osservai che l' essudato non occupava soltanto la camera anteriore ed il campo pupillare, ma invadeva anche la camera posteriore, avvolgendo per una certa estensione il cristallino, come s' uole appunto avvenire nelle forme gravi di iridociclite. In un occhio anche la coroidea e la retina parteciparono in modo intenso al processo infiammatorio.

Malgrado l' intensità di questi fenomeni infiammatori, non mi riuscì però mai, come dissi, di constatare nel circolo sanguigno la presenza dei microorganismi inoculati nell' occhio. Ciò corrisponde appunto a quanto venne osservato anche da altri, che non riscontrarono il bacillo sottile nel sangue, o negli organi interni. In nessun caso di panoftalmite sperimentale provocata col bacillo sottile è stato infatti finora riscontrato questo microorganismo nel circolo sanguigno, tanto che fu appunto per una creduta proprietà di rimanere localizzato all' occhio una volta che vi penetra o vi viene inoculato, che questo germe venne ritenuto capace di provocare una panoftalmite. Come già feci altra volta rilevare, *Silberschmidt* fa infatti osservare che inoculando lo streptococco nel vitreo di un coniglio in cultura pura o associata al bacillo sottile, non ottenne panoftalmite; l' animale morì in 24 ore e dal sangue isolò una cultura pura di streptococco. Questo fatto indusse *Silberschmidt* a ritenere che i microorganismi per provocare una panoftalmite non devono essere troppo virulenti. Ed a conferma di ciò *Silberschmidt* fa ancora osservare che una cultura pura poco virulenta di streptococco, iniettata sotto la cute, non produce che un accesso localizzato, mentre una cultura la cui virulenza è esaltata, iniettata nelle medesime condizioni, uccide l' animale per setticemia,

senza dar luogo a reazione nel punto d'inoculazione. Questo fatto dimostrerebbe perciò, secondo questo osservatore, che l'ascesso del corpo vitreo prodotto dal bacillo sottile è, fino ad un certo punto, paragonabile a quello sottocutaneo dato dallo streptococco. Ecco adunque perchè il bacillo sottile non passerebbe nel sangue dopo d'aver provocata una panoftalmite.

Contrariamente a tutti gli altri osservatori, *Römer* (1) riuscì però ad isolare il bacillo sottile, inoculato in un occhio, non soltanto dagli organi interni, ma anche dall'iride e dalla coroidea dell'altro occhio, fatto questo ch'egli aveva già potuto prima constatare cogli agenti della setticemia e con microorganismi che provocano la metastasi. Questi risultati ottenuti da *Römer* sono senza dubbio interessanti per quel che riguarda la questione, che sempre si agita, sulla patogenesi dell'oftalmia simpatica. Essi non sono però che una conferma di quanto *Picot* (2) potè ottenere con un altro microorganismo, il tetragono, che inoculato in un occhio, venne da questo osservatore riscontrato nell'umore acqueo dell'altro.

Questo fatto, scriveva sino dal 1898 *Picot*, deve rendere molto riservati coloro che pensano che nel corso delle infezioni micobiche i fenomeni dell'oftalmia simpatica risultano dal fatto che i germi emigrano da un occhio all'altro, seguendo le guaine del nervo ottico e del chiasma. Gli agenti infettivi hanno poca tendenza a passare dal corpo vitreo nel nervo ottico, perchè la pallite precoce ch'essi determinano, scrive questo osservatore, occlude le guaine linfatiche dei vasi centrali, le sole vie aperte al loro passaggio. Ma all'innanzi la corrente dell'umore acqueo può trasportare i microorganismi verso le vie di escrezione ed una volta superata la sottile barriera del canale di *Schlemm*, gli agenti patogeni passano facilmente nelle vene ciliari anteriori per diffondersi nella corrente sanguigna di ritorno.

Römer fa perciò a ragione rilevare che non c'è alcun microorganismo pel quale si sia potuto dimostrare che dopo un'infezione

(1) *Römer*. — Ueber die Aufnahme von Infectionserregern in das Blut bei intraocularen Infectionen. Archiv für Augenheilkunde, Bd. 55, pag. 313.

(2) *Picot*. — Recherches expérimentales sur l'inoculation de microorganismes dans la chambre antérieure de l'œil du lapin. — Archives d'Ophthalmologie XVIII, 1898, pag. 353.

oculare si comporti conformemente alle condizioni dell'ipotesi della migrazione. La diffusione dei microorganismi non si compie, secondo questo osservatore, lungo la via del nervo ottico, ma le leggi dell'assorbimento degli agenti dell'infezione per parte del sangue valgono anche per le infezioni intraoculari. Per questa via i germi arrivano in una serie di casi sino all'uvea dell'altro occhio. Ed è con ciò che si è costretti ad escludere l'ipotesi della migrazione.

Ma per quale ragione non fu né a me, né ad altri possibile riscontrare nel circolo sanguigno gli stessi microorganismi inoculati da *Römer* nell'occhio? La diversità dei risultati è senza dubbio spiegabile o colla tecnica differente usata nelle inoculazioni o da quella seguita nell'esame culturale dagli organi interni degli animali o dalle due circostanze insieme. Nelle mie esperienze, ad esempio, essendomi più che altro proposto di indagare se anche una piccola quantità di saprofitti fosse ancora in grado di provo-
care nell'occhio un processo infiammatorio d'una certa intensità, aveva di proposito inoculato una cultura in brodo e financo una cultura in brodo diluita di bacillo sottile, anzichè una densa emulsione, come fece *Römer*, che aveva invece rivolte le sue ricerche all'unico scopo di stabilire se i germi inoculati nell'occhio passassero negli organi interni. Per di più, *Römer* inoculò non già i bacilli, come feci io, ma forme più resistenti, le spore. Questo osservatore procurò inoltre, in modo speciale, di impedire che il materiale inoculato avesse a fuoruscire e ciò sempre allo scopo di farne rimanere la maggior quantità possibile nell'occhio. Per le inoculazioni nel vitreo egli perforava cioè coll'ago roventato il centro della cornea e quindi, dopo aver lasciato fuoruscire l'umore acqueo, penetrava attraverso il cristallino per inoculare il materiale nel vitreo, senza, per questo, ledere la retina o la coroidea, per escludere la possibilità di portare direttamente i germi nei vasi sanguigni. Questo modo di procedere doveva avere il vantaggio che ritirando lentamente la siringa, il cristallino veniva ad occludere la ferita e non era così possibile la fuoruscita dell'emulsione inoculata. Per quel che riguarda poi la ricerca dei bacilli nell'organismo dell'animale *Römer* non si limitò soltanto a prendere dal fegato o dalla milza qualche ansa di sangue. Egli ridusse invece questi organi in minutissimi

frammenti, che vennero in parte trasportati in boccette di *Erlenmeyer*, contenenti brodo. A questo metodo non abbiamo ricorso nè io, nè, credo, nessuno degli osservatori che si occuparono della ricerca del bacillo sottile nel sangue e negli organi interni, dopo averlo inoculato nell'occhio. Dati i metodi di tecnica usati da *Römer*, si comprende quindi come i risultati da esso ottenuti dovessero essere differenti da quelli degli altri osservatori.

Cercai perciò di isolare anch'io dagli organi interni e dal secondo occhio i microorganismi inoculati nel primo, non già però allo scopo di fare esperienze di controllo a quelle di *Römer*, ma per indagare se mi era possibile arrivare ai risultati ottenuti da questo osservatore, inoculando nell'animale una quantità molto minore di spore. Le esperienze di *Römer* sono infatti, senza dubbio, interessanti, ma se un'obbiezione si può muovere a questo osservatore è appunto quella di aver inoculato nell'occhio un'ormai quantità di germi e di essersi così troppo allontanato dal modo con cui si manifesta ordinariamente un'infezione oculare nell'uomo. Come fa rilevare *Axenfeld*, (1) coll'introdurre in una sola volta numerosi microorganismi virulenti nell'interno dell'occhio, si può avere molto facilmente il loro pasaggio nelle vie di deflusso, prima che si stabiliscano in esse impedimenti di qualsiasi natura. Nelle ferite infettanti dell'occhio umano invece prima che i pochi germi penetrati si sieno diffusi alle vie di deflusso può già essersi manifestata in queste un'obliterazione con cellule o fibrina. Si comprende quindi facilmente come col creare nelle esperienze condizioni differenti da quelle che si presentano nella clinica, noi non possiamo poi trasportare con troppa facilità i risultati delle nostre ricerche dall'animale all'uomo. Egli è perciò che ispirandomi al concetto che mi ha guidato anche nelle mie lunghe ricerche sull'importanza patogena dei saprofiti nelle infezioni oculari, di allontanarmi cioè il meno possibile dal modo con cui si manifestano le infezioni oculari dopo un traumatismo, incominciai le mie esperienze coll'infiggere in corrispondenza del corpo ciliare dei conigli un coltellino di *Graefe*, colla cui punta aveva prima presa dalla superficie d'una cultura in agar di bacillo sottile in completa sporulazione una certa quantità di materiale.

(1) *Axenfeld*. — Die Bakteriologie in der Augenheilkunde. Tena, Fischer 1907, pag. 340.

Ho preferito scegliere per queste esperienze la regione del corpo ciliare, sia perchè sono appunto le ferite che interessano questa parte dell'occhio che ordinariamente conducono all'oftalmia simpatica, sia per passare col tagliente infetto attraverso una regione ricca di vasi e facilitare così il passaggio delle spore nel circolo sanguigno. Il corpo ciliare venne ferito penetrando direttamente in esso attraverso la sclerotica, senza ledere la cornea, per non provocare colla ferita di quest'ultima una procidenza d'iride, ciò che avrebbe potuto dar luogo più facilmente ad un'infezione secondaria. La reazione locale fu però, in generale, poco intensa. Anche negli animali nei quali si manifestò un'iridociclite non mi fu, ad ogni modo, possibile riscontrare il bacillo sottile nel circolo sanguigno, negli organi interni, o nel secondo occhio.

Tabella 1.^a

1^a Serie di esperienze. — Ferita del corpo ciliare con coltellino infettato con spore di bacillo sottile.

Num. dell'animale	Quanto tempo dopo l'esperienza venne sacrificato l'animale	Cultura dall'occhio inoculato	Cultura dall'iride del 2 ^o occhio	Cultura dalla coroidea del 2 ^o occhio	Cultura dal sangue	Cultura dal fegato	Cultura dalla milza
1	dopo 6 ore	+	0	0	0	0	0
2	» 12 ore	+	0	0	0	0	0
3	» 1 giorno	0	0	0	0	0	0
4	» 1 giorno	+	0	0	0	0	0
5	» 2 giorni	0	0	0	0	0	0
6	» 2 giorni	+	0	0	0	0	0
7	» 3 giorni	+	0	0	0	0	0
8	» 3 giorni	+	0	0	0	0	0
9	» 4 giorni	0	0	0	0	0	0
10	» 5 giorni	0	0	0	0	0	0
11	» 6 giorni	0	0	0	0	0	0

Come risulta dalla Tabella 1^a, l'esame batteriologico dal sangue, dal fegato, dalla milza e dal tratto uveale dell' altro occhio condusse infatti sempre ad un risultato negativo, per quanto attenendomi ai precetti di *Römer*, avessi ridotti gli organi in minutissimi frammenti, trasportando poi molti di questi in boccette d' *Erlenmeyer*. Il bacillo sottile venne invece isolato in cultura pura da una parte degli occhi inoculati.

Fin qui le esperienze sull'animale corrispondono adunque a quanto accade nell'uomo, perchè in nessun caso d' infezione oculare sono stati riscontrati microorganismi nell'albero circolatorio (1).

Per quanto queste prime esperienze da me eseguite non facessero che riprodurre quanto può accadere in seguito ad un traumatismo, tenni conto in una 2^a serie di ricerche di un altro fatto, che pur frequentemente si osserva nella clinica, del soffermarsi cioè del corpo estraneo nell'occhio. Ciò tanto più perchè nella maggior parte degli animali, nei quali non s'era fatta che una ferita del corpo ciliare, non si era avuta nell'occhio che una reazione poco intensa. Attraverso la ferita praticata nel modo indicato per la 1^a serie di esperienze introdussi perciò nell'interno dell'occhio una scheggia di filo di rame, della lunghezza di 3-5 mm., dopo d'averla infettata con spore di bacillo sottile, attenendomi in questo a quanto fu già fatto sperimentando con questo microorganismo (2).

(1) Soltanto zur *Nedden* (*Bakteriologische Blutuntersuchungen bei sympathischer Ophthalmie und andern Formen von Iridochorioiditis* — *Archiv. f. Ophth. Bd. LXII*, pag. 193, 1905) iniettando nel vitreo di conigli il sangue di individui affetti da oftalmia simpatica, potè provocare un processo infiammatorio. Trasportando poi il vitreo da un animale all'altro, potè isolare dal vitreo del 4^o animale una specie di bacillo pseudodifferico, difficile a colorirsi ed a coltivarsi e che inoculato in piccole quantità nel vitreo, provocò un'infiammazione lenta, che condusse al raggrinzimento dell'occhio. Inoculandone una grande quantità nella carotide comune, provocò spesso un'oftalmia metastatica, che guarì dopo alcune settimane. zur *Nedden* non pretende però di avere con questo scoperto l'agente patogeno dell'oftalmia simpatica. Se però si volesse ammettere che diversi microorganismi possono dar luogo all'oftalmia simpatica, bisognerebbe convenire che uno di questi è quello scoperto da zur *Nedden*. Ad ogni modo, ricerche fatte da altri (Bronz) non dimostrarono nel circolo sanguigno la presenza di questo bacillo trovato da zur *Nedden*. (Cfr. *Axenfeld* loc. cit. pag. 343).

(2) *Polatti*. — La panoftalmite a bacillus subtilis. Ricerche sperimentali. *Annali d'ottalpologia*, XXVI, pag. 56, 1905.

Per preparare queste schegge aveva fatto limare un filo di rame in vari punti della sua superficie, in modo da renderlo ruvido. Dal filo così preparato aveva poi fatto tagliare le piccole schegge, che per fatto di presentare una superficie scabra, dovevano permettere alle spore di aderirvi con maggior facilità. Prima di venir introdotte nell'occhio queste schegge erano poi state immerse per 24 ore in una cultura di 5 giorni in completa sporulazione e da qui trasportate ad essiccare per 24 ore in una scatola di Petri

Tabella 2^a.

2^a Serie di esperienze. — Introduzione nell'occhio di una scheggia di rame infettata con spore di bacillo sottile.

Num. dell'animale	Quanto tempo dopo l'esperi- ranza venne sacrificato l'animale	Cultura dall'occhio inoculato	Cultura dall'iride del 2 ^o occhio	Cultura dalla coroida del 2 ^o occhio	Cultura dal sangue	Cultura dal fegato	Cultura dalla milza
12	dopo 6 ore	+	0	0	0	0	0
13	» 12 ore	+	0	0	0	0	0
14	» 1 giorno	+	0	0	0	0	0
15	» 1 giorno	+	0	0	0	0	0
16	» 1 giorno	+	0	0	0	0	0
17	» 2 giorni	+	0	0	0	0	0
18	» 2 giorni	+	0	0	0	0	0
19	» 2 giorni	+	0	0	0	0	0
20	» 3 giorni	+	0	0	0	0	0
21	» 3 giorni	+	0	0	0	0	0
22	» 4 giorni	0	0	0	0	0	0
23	» 4 giorni	+	0	0	0	0	0
24	» 5 giorni	+	0	0	0	0	0
25	» 5 giorni	0	0	0	0	0	0
26	» 6 giorni	0	0	0	0	0	0

sterile. Per quanto poche spore potessero essere attaccate alla scheggia metallica, ne veniva introdotta nell'occhio una quantità certamente molto maggiore di quella che vi penetra ordinariamente con un corpo estraneo, che venga a ferire l'occhio. I fenomeni reattivi furono di varia intensità. In sei conigli non si ebbe che una lieve reazione. Negli altri però la reazione fu intensa e da un'iridocilite si arrivò in tre animali fino ad una panoftalmita. Cionondimeno anche in questi casi non mi fu mai possibile isolare dal sangue, dagli organi interni, o dall'uvea dell'altro occhio il bacillo sottile (Cfr. Tabella 2^a). Dall'occhio inoculato venne invece quasi sempre isolato questo microorganismo, per lo più in cultura pura. Due volte venne invece isolato insieme ad altri microorganismi, ma di queste esperienze non venne tenuto conto.

Dopo i risultati di queste prime due serie di ricerche, pensai che per isolare il bacillo sottile dal circolo sanguigno era necessario ch'io mi allontanassi nelle mie esperienze molto di più da quanto accade nella clinica. Provai allora ad iniettare anch' io nell'occhio dell'animale un'emulsione di spore, come aveva fatto *Römer*, ma anzichè prepararmi l'emulsione portando, secondo i precetti di questo osservatore, 2 intere culture in agar in 2 cmc. di soluzione fisiologica di cloruro di sodio, trasportai nella stessa quantità di liquido una sola ansa di cultura in agar in completa sporulazione. Agitando la provetta, ottenni così la formazione di un liquido, che pel fatto di mostrarsi sia pure leggermente turbido, doveva farmi ritenere che per quanto io mi fossi allontanato di molto dalla densa emulsione usata da *Römer*, veniva però sempre ad inoculare una quantità enorme di spore di bacillo sottile.

Le inoculazioni vennero fatte nel modo seguente: Mentre un assistente mi teneva lussato con un uncino da strabismo il bulbo oculare fuori dell'orbita, passava perpendicolarmente attraverso il centro della cornea con un ago di una siringa di vetro, arrestandomi però appena penetrato nella camera anteriore. In tal modo fuorusciva spontaneamente dall'occhio una certa quantità di umore acqueo, ma, ad ogni modo, per facilitare lo svuotamento della camera anteriore, ne aspirava un altro poco colla siringa. Per evitare di introdurre un altro ago in un'altra parte della cornea, innestava poi in quello stesso che aveva servito per l'estra-

zione dell'umore acqueo, la siringa contenente la emulsione da iniettare, spingendo poi l'ago stesso attraverso il cristallino, in modo da arrestarmi ad un dato punto, per penetrare così nel vitreo senza ledere la coroidea o la retina, ciò che avrebbe facilitato il trasporto delle spore nel circolo sanguigno. Appena incominciava a premere sullo stantuffo per procedere all'inoculazione, l'assistente abbandonava quasi l'uncino da strabismo, perché la pressione sull'occhio avrebbe potuto ostacolare l'introduzione dell'emulsione. I risultati di questa 3^a serie di ricerche si trovano riassunti nella tabella 3^a.

Tabella 3.^a

3 Serie di esperienze. — Inoculazione nel vitreo di una emulsione diluita di spore di bacillo sottile.

Num. dell'animale	Quanto tempo dopo l'esper- ienza venne sacrificato l'animale	Cultura dall'occhio inoculato	Cultura dall'iride del 2 ^o occhio	Cultura dalla coroide del 2 ^o occhio	Cultura sangue	Cultura dal fegato	Cultura dalla milza
27	dopo 12 ore	+	0	0	0	0	0
28	» 1 giorno	+	0	0	0	0	0
29	» 1 giorno	+	0	0	0	+	0
30	» 2 giorni	+	0	0	0	0	0
31	» 3 giorni	+	0	0	0	0	0
32	» 3 giorni	+	0	0	0	+	0
33	» 4 giorni	+	0	0	0	0	0
34	» 4 giorni	+	0	0	0	0	0
35	» 5 giorni	+	0	0	0	0	»
36	» 6 giorni	+	0	0	0	0	0
37	» 7 giorni	+	0	0	0	0	0
38	» 8 giorni	+	0	0	0	0	0
39	» 9 giorni	+	0	0	0	0	0
40	» 1 giorno	+	0	0	Non vennero fatte le culture		
41	» 2 giorni	+	0	0	»		
42	» 3 giorni	+	0	0	»		
43	» 4 giorni	+	0	0	»		
44	» 5 giorni	+	0	0	»		
45	» 6 giorni	+	0	0	»		
46	» 7 giorni	+	0	0	»		

In ogni animale si ebbe una reazione assai intensa, da un'iridociclite ad una panoftalmite. Se il bacillo sottile non fu riscontrato nel sangue, venne però isolato due volte dal fegato e precisamente una volta dopo 1 giorno ed un'altra dopo 3 giorni dall'inoculazione. Nei giorni successivi non lo potei più rinvenire e non mi fu nemmeno possibile isolarlo dalla milza e dal tratto uveale dell' altro occhio. Continuai nelle mie ricerche sino al 9° giorno dell'inoculazione, ma senza alcun risultato. Ripetei le esperienze per tentare ancora di isolarlo almeno dal 2° occhio, ma il risultato fu sempre negativo. Io non escludo però che proseguendo nelle esperienze avrei potuto isolare il bacillo anche dal tratto uveale del 2° occhio, dal momento che mi era indubbiamente risultato ch'esso poteva passare nel circolo sanguigno.

Tabella 4.^a

4^a Serie di esperienze. — Inoculazione nel vitreo d'una densa emulsione di spore di bacillo sottile.

Num. dell'animale	Quanto tempo dopo l'esperienza venne sacrificato l'animale	Cultura dall'occhio inoculato	Cultura dall'iride del 2 ^o occhio	Cultura dalla coroidea del 2 ^o occhio
47	dopo 12 ore	+	0	0
48	» 1 giorno	+	0	0
49	» 1 giorno	+	0	0
50	» 2 giorni	+	0	0
51	» 2 giorni	+	0	+
52	» 3 giorni	+	0	0
53	» 3 giorni	+	0	0
54	» 3 giorni	+	0	0
55	» 4 giorni	+	0	0
56	» 4 giorni	+	+	+
57	» 6 giorni	+	0	0

Nel dubbio di non potervi riuscire troppo facilmente, preferii però ricorrere, per questo scopo, ad una quarta serie di esperienze e cioè all'inoculazione di maggior quantità di materiale. Ricorsi perciò ad un'emulsione molto più densa e me la preparai, come fece *Römer*, trasportando due intere culture in agar in 2 cmc. di soluzione fisiologica di cloruro di sodio. Ne risultò così un liquido lattiginoso, densissimo, tanto fu il materiale preso dalla cultura.

Da questa 4^a serie d'esperienze, destinate unicamente alla ricerca del microorganismo nel tratto aveale del 2^o occhio (Cfr. Tabella 4^a), appare evidente che mi fu possibile isolare dal 2^o occhio il bacillo sottile e **precisamente una volta dalla coroidea** due giorni dopo l'inoculazione ed una volta dall'iride e dalla coroidea quattro giorni dopo l'esperienza. Non proseguì nelle mie ricerche, per indagare sino a quanti giorni dopo l'inoculazione il microorganismo inoculato potesse riscontrarsi nel 2^o occhio, perché i risultati delle esperienze di *Römer* erano ormai confermati. Devo però far rilevare che ripetendo più tardi le stesse esperienze con spore di un altro campione di bacillo sottile, (esperienze queste delle quali non ho creduto di tener conto nelle tabelle) su altri 14 animali, non mi fu più possibile isolare il germe dal 2^o occhio, ma soltanto dal fegato e dalla milza.

Convinto però, pei risultati ottenuti da questa 4^a serie di ricerche, che nell'altro occhio potessero passare i microorganismi inoculati, lasciai in vita altri 3 animali che aveva già inoculati e ripetei l'esperienza, a varie riprese, nel periodo di 7 mesi, su altri 32, col proposito di non sacrificarli per le ricerche batteriologiche dagli organi interni, ma di lasciarli in vita per constatare se eventualmente si manifestasse in essi un processo morboso dall'altro occhio. Gli animali destinati a questa 5^a serie di ricerche furono così, complessivamente, 35. Essi vennero tenuti in osservazione, per un periodo di tempo da 10 giorni a 8 mesi, tenendo conto anche delle alterazioni che si potevano manifestare nel fondo del 2^o occhio. Ciononpertanto all'esame oftalmoscopico non riscontrai mai nel 2^o occhio alcuna alterazione, che potesse farmi pensare a metastasi nelle membrane profonde. In un animale invece in cui aveva inoculata nel vitreo una densa emulsione di spore, che aveva dato luogo, come d'ordinario, ad

una panoftalmite, si manifestarono al 4° giorno dall'inoculazione i primi sintomi di un' irite. I fenomeni infiammatori non erano molto intensi, l' iniezione ciliare non molto considerevole, ma nella pupilla si osservò ben presto e precisamente dopo altri 5 giorni, la formazione di un essudato, che non la occludeva però completamente. L' iride rigonfia presentava dei solchi, disposti in senso raggiato, che sembravano come dividerla in tanti settori. Il giorno seguente, e cioè al 10° giorno dall'inoculazione, feci uccidere l'animale e procedetti all'enucleazione dell'occhio. Siccome il quadro clinico dell'affezione non lasciava alcun dubbio sulla diagnosi, rinunziai all'esame anatomo-patologico, sembrandomi assai più interessante quello batteriologico, che doveva rendermi conto della natura dell'agente infettivo. E siccome l'esperienza mi aveva dimostrato che per assicurarmi della presenza negli organi interni e nell'occhio dei microorganismi inoculati era necessario prendere in esame molti frammenti, fui costretto a sacrificare l'occhio intero per le ricerche batteriologiche.

Aperto il bulbo colle debite cautele e cioè dopo d'averlo ben lavato in una soluzione di sublimato corrosivo al 1 per 1000, ed asciugato poi con cotone sterilizzato (per evitare di prendere fra i germi che fossero eventualmente caduti nel sacco congiuntivale anche il b. sottile,) constatai che l'essudato occupava soltanto in parte la camera posteriore in alto ed all'esterno. Il cristallino ed il vitreo apparivano trasparenti. Dall'esame batteriologico risultò quanto segue :

Le boccette d'*Erlenmeyer* nelle quali s'erano trasportati frammenti di nervo ottico, di retina, di vitreo e di cristallino rimasero completamente sterili. In entrambe quelle nelle quali vennero trasportati frammenti di essudato si notò invece lo sviluppo, per quanto non molto abbondante, del bacillo sottile. In una delle cinque boccette nelle quali erano stati trasportati frammenti d'iride si sviluppò pure il bacillo sottile e così pure in due delle cinque nelle quali vennero trasportati frammenti di coroidea o di corpo ciliare. Questo microorganismo si sviluppò anche in una delle otto boccette, nelle quali erano stati trasportati frammenti di fegato ed in tre delle otto nelle quali erano stati trasportati frammenti di milza.

Quali sono i risultati che si possono trarre da queste ricerche? In una esperienza su 35 (senza tener conto degli animali della Tab. 4^a, pur essi inoculati con una densa emulsione, per fatto che una parte almeno di questi era rimasta in vita troppo poco tempo) ho provocato colle spore di bacillo sottile inoculate in un occhio la manifestazione di un' irite con formazione di essudato nell'altro. Ciò non sta in contraddizione colle proprietà patogene di questo microorganismo per l'occhio. Anzitutto se questo saprofita è stato per lo più isolato da casi di panoftalmite, venne però riscontrato anche in un'iridociclite plastica postoperatoria (1). Secondariamente poi è un fatto dimostrato specialmente dalle ricerche di *Stock* (2) che anche microorganismi che inoculati direttamente in un occhio vi provocano violenti fenomeni infiammatori, che conducono rapidamente alla distruzione del bulbo, arrivandovi invece per il circolo sanguigno, danno luogo ad un processo morboso, che guarisce anche spontaneamente.

Stock spiega questa differenza nella virulenza facendo rilevare che è appunto il trasporto per mezzo della via sanguigna che offre le condizioni per un decorso più benigno della malattia. Mentre coll'iniezione nel vitreo o nella camera anteriore di un occhio i germi hanno un grande spazio in cui si sviluppano indisturbati, esercitando la loro azione deleteria, sono invece racchiusi dalle pareti vasali nel loro trasporto per la via sanguigna. In tal modo possono grandi masse di sostanza protettiva (leucociti, sangue) avvolgere i germi e rendere innocui i loro prodotti di ricambio. Nel nostro caso devevi poi anche tener conto della quantità di germi che potevano trovarsi nel 2^o occhio, quantità che dai risultati del reperto culturale si manifestò certamente inferiore a quella che viene inoculata quando si provoca una panoftalmite.

(1) *Ulbrich*. — Experimentelle Untersuchungen ueber die Wirkung in das Auge eingebrachter saprophytischer Bakterien. Archiv f. Ophth. Bd. LVIII, pag. 285, 1904.

(2) *Stock*. — Experimentelle Untersuchungen ueber Localisation endogener Schädlichkeiten, besonders infektiöser Natur im Auge, zugleich ein Beitrag zur Frage der Entstehung endogener Iritis und Chorioiditis, sowie der sympathischen Ophthalmie. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. XLI, 1. pag. 115, 1908.

La manifestazione di un'irite nel 2º occhio, osservata in una delle mie esperienze, sembrerebbe completare quanto venne già largamente esposto da *Römer*, nel senso che dimostrano che il bacillo sottile inoculato in un occhio può non soltanto passare nell'altro, ma è in grado di provocare in questo un processo infiammatorio. Con ciò non pretendo però senz'altro di asserrare che l'oftalmia simpatica si manifesti per il passaggio dei microorganismi dall'occhio ferito all'altro per la via del circolo sanguigno, come vorrebbero i sostenitori della teoriaematogena. Secondo questa teoria, scrive *Römer* (1), l'oftalmia simpatica dell'uomo fa l'impressione di un'infezione patogena per l'occhio ed indifferente per il corpo, che arriva per metastasi nell'altro occhio. Per comprendere come questa infezione sia patogena soltanto per l'occhio e possa dare, ad esempio, un'iridocilite simpatica, bisogna ammettere che fra i vasi dell'uvea e gli agenti dell'oftalmia simpatica esistano affinità specifiche. Pur astraendo dal fatto, dice infatti *Römer*, (2) che esistano differenze quantitative nel sangue contenuto nei capillari e con ciò nelle sostanze battericide, la cui influenza sui microorganismi è appunto decisiva per il loro sviluppo e per la loro distruzione nei diversi organi, pur astraendo da ciò che lo scambio dei gas nei capillari dei vari organi non è dappertutto lo stesso, si può comprendere come ancora altre più importanti differenze chimiche nel ricambio materiale dei singoli organi, appunto nei distretti capillari, debbano condurre ad una diversa combinazione chimica e biologica dei succhi del corpo, che da parte loro non possono rimanere senza influenza sull'aumento dei germi infettivi. È questa un'opinione non tutta personale di *Römer*, ma che, come fa osservare questo stesso osservatore, è già stata manifestata anche da altri. È appunto per questo che il bacillo sottile provoca una panoftalmite, mentre, inoculato sotto la cute nella stessa quantità, non dà un ascesso. Si comprende quindi da tutto ciò come l'agente patogeno dell'oftalmia simpatica possa essere un microorganismo che, penetrato in un occhio ferito e passando nel circolo sanguigno, non

(1) *Römer* — Continuazione della pubblicazione citata. — Archiv. f. Augenheilkunde Bd. 56, pag. 88.

(2) *Römer*. — Ibidem.

trova nei vari organi del corpo, all'infuori dell'altro occhio, le condizioni favorevoli per provocarvi un processo morboso.

Nelle mie esperienze ciò si è verificato infatti coll'inoculazione del bacillo sottile nel 1° occhio dell'animale. Se non che, ci dobbiamo qui domandare: Possiamo noi trasportare dall'animale all'uomo i risultati di un'esperienza, che tanto si allontana da quanto avviene nella clinica? Nè la natura del microorganismo inoculato, nè la quantità di materiale impiegato ce lo potrebbero consentire. Non occorre qui far rilevare la nessuna importanza patogena del bacillo sottile nell'oftalmia simpatica, nè a ciò pensano certamente i sostenitori della teoria ematogena. Il bacillo sottile fu scelto nelle esperienze soltanto per iniettare un germe resistente, che non andasse distrutto nell'organismo, senza dare, per questo, luogo a manifestazioni generali o a lesioni di organi interni. I sostenitori della teoria ematogena sembrerebbero però trarre le loro conclusioni dalla sola presenza nel circolo sanguigno (e quindi nel secondo occhio) del microorganismo inoculato nel primo occhio, senza troppo considerare che tale presenza si deve al fatto di aver inoculata un'enorme quantità di materiale. Ed è qui ch'io non sarei dello stesso avviso di questi osservatori. Il provocare sperimentalmente nel secondo occhio un processo infiammatorio dopo l'inoculazione nel primo di un'enorme quantità di germi, quali certamente non potrebbero mai capitare in un occhio ferito, mi sembra un fatto di ben poca importanza per la dottrina ematogena dell'oftalmia simpatica. Le conclusioni potrebbero essere forse differenti soltanto quando si arrivasse allo stesso risultato inoculando nel primo occhio una *quantità minima* di materiale infettante, ciò che a me non è invece accaduto di osservarla in alcuno degli animali delle prime tre serie di esperienze, inoculati con poca quantità di spore. Di questi conigli, pur volendo escludere quelli sacrificati nei primi tre giorni, erano infatti rimasti in vita 19 per 4-9 giorni e cioè per un periodo di tempo non inferiore a quello che fu necessario perchè si manifestasse l'irite nel 2° occhio dell'animale in cui noi l'abbiamo osservata. L'assenza d'una manifestazione morbosa nel 2° occhio di questi animali sta, del resto, in rapporto anche coll'estrema rarità con cui essa s'è presentata fra i 35 inoculati con enorme quantità di materiale. Se si pensa che in questi mi riusci di osservare un'afe-

zione del 2° occhio solo dopo numerose esperienze, si è indotti a concludere che tale affezione si deve quasi considerare come una pura accidentalità. E tale accidentalità è spiegabile col fatto che malgrado la grande facilità alla manifestazione di metastasi oculari nel coniglio, queste non si osservano ordinariamente quando non si inoculano direttamente i germi nell'albero circolatorio, ma sotto la cute o nel peritoneo, esperienze queste che non permettono di introdurre nel circolo sanguigno che pochi microorganismi. Analoghe a queste esperienze si potrebbero appunto ritenere le mie, perchè io pure praticando l'inoculazione — sia pure d'una grande quantità di materiale — in un occhio anzichè in una vena, non son venuto certamente a portare direttamente i germi nel sangue circolante.

Dalle mie esperienze non si può poi affatto concludere di aver provocata nel secondo occhio una vera oftalmia simpatica e credo che di questo avviso potrebbero essere anche i sostenitori della teoria ematogena. Basta infatti solo considerare che in questo secondo occhio l'irite insorse già dopo quattro giorni dall'inoculazione delle spore nel primo, per convincersi che noi ci siamo qui trovati innanzi ad un'affezione ben differente. Vero è che qui si tratta di animali e che il processo morboso nel secondo occhio segui all'inoculazione (nel primo occhio) delle spore di un bacillo, che potrebbe avere fra le sue proprietà quella di provocare nel secondo occhio fenomeni infiammatori molto tempo prima di quello che è necessario all'agente dell'oftalmia simpatica per provocarli nell'uomo. Ma è appunto anche per ciò che noi non possiamo senz'altro interpretare coi soli risultati dell'esperienza fatti che si osservano nella clinica. Nell'oftalmia simpatica se l'affezione è data da un microorganismo, si tratta sempre di un germe ancora sconosciuto. Non credo perciò che si possano trarre tanto facilmente conclusioni da esperienze fatte con un altro microorganismo, che forse presenta proprietà biologiche ben differenti da quello che può esser la causa della malattia.

Le mie ricerche non dimostrano altro che coll'inoculazione di spore di bacillo sottile in un occhio si può provocare nell'altro un processo infiammatorio. Il manifestarsi di un processo infiammatorio nel secondo occhio dopo il passaggio nel circolo sanguigno dei microorganismi inoculati nel primo costituisce certamente un

fatto nuovo, ma non rappresenta però che un fatto di natura metastatica, analogo a quello che si è già potuto ottenere più facilmente coll'introduzione diretta di altri germi nell'albero circolatorio.

Dalle mie esperienze non si possono adunque trarre che le seguenti conclusioni:

1º) Trasportando le spore di bacillo sottile nell'occhio direttamente col tagliente o introducendovole mediante una scheggia di rame che lasciava nel bulbo, non mi fu mai possibile riscontrare la presenza del microorganismo nel circolo sanguigno, negli organi interni o nel tratto uveale dell'altro occhio, mentre invece mi fu possibile isolarlo dall'occhio inoculato.

2º) Soltanto dopo l'inoculazione nell'occhio di un'emulsione di spore non molto densa, ma contenente però sempre una grande quantità di materiale infettante, riuscii ad isolare due volte il bacillo sottile dal fegato, non però dal tratto uveale dell'altro occhio.

3º) Inoculando in un occhio un'emulsione assai densa di spore, come fece *Römer*, potei invece riscontrare il bacillo sottile anche nel tratto uveale dell'altro occhio.

4º) In un animale sopra 35 inoculati con una densa emulsione e tenuti poi in osservazione constatai nel secondo occhio anche un'iritide, data dal microorganismo inoculato. Non pretendo però di aver con ciò provocata un'oftalmia simpatica, ma ritengo che l'affezione del secondo occhio si debba riguardare soltanto come un fatto di natura metastatica, avvenuto per di più in via quasi eccezionale e solo dopo l'introduzione di un'enorme quantità di germi nel primo occhio e cioè per circostanze che non possono certamente presentarsi nella clinica.

—♦—

1645^ 2



Estratto dagli « Annali di Ottalmologia » Anno XXXIX, fasc. 11-12 (1916)

