



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

BRUNO BESTA, CARLO PANÀ

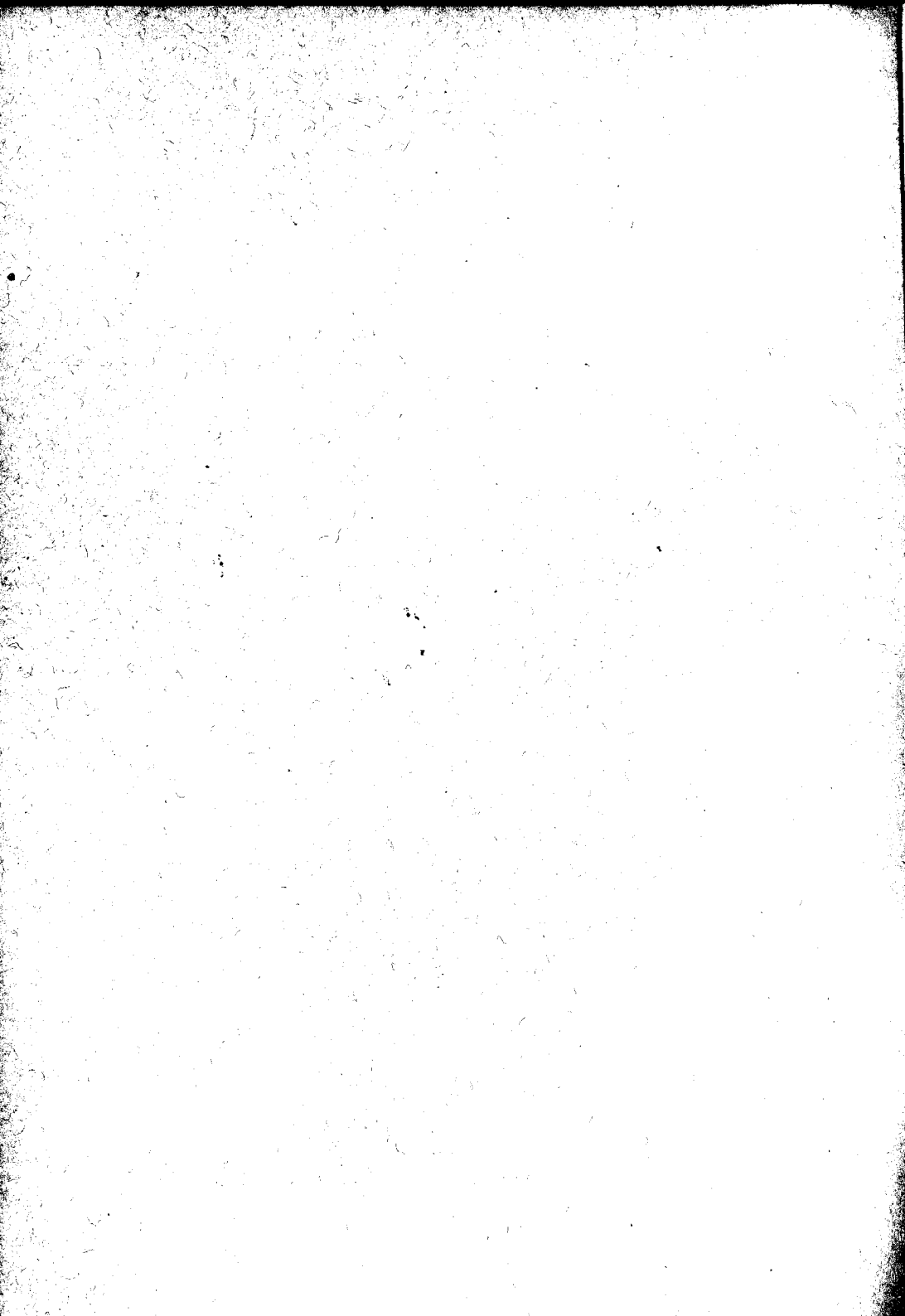
LARVATA AZIONE PATOGENA NEL CONIGLIO
DI UN CEPPLO DI CEPHALOSPORIUM ISOLATO
DAL SANGUE UMANO

Estratto da ANNALI DELL'ISTITUTO « CARLO FORLANINI »
Anno II, N. 11-12, Pag. 807-812



ROMA
TIPOGRAFIA OPERAIA ROMANA
Via Emilio Morosini, 17

1938-XVI



LARVATA AZIONE PATOGENA NEL CONIGLIO DI UN CEPPPO DI CEPHALOSPORIUM ISOLATO DAL SANGUE UMANO

BRUNO BESTA e CARLO PANÀ

Durante le ricerche sulla bacilleemia tubercolare che furono eseguite in questo Istituto per il Congresso Nazionale della Tubercolosi del 1937 fu possibile isolare su terreno di PETRAGNANI, dal numerosissimo materiale in esame, due ceppi di miceti che successivamente (essi furono anche inviati ai Professori CIFERRI e REDAELLI) si dimostrarono appartenere al genere dei cefalosporidi.

In possesso di questi ceppi è stato subito iniziato uno studio sulla loro attività biologica soprattutto con il fine di osservare se tali microrganismi isolati dall'uomo e che avevano mostrato quindi di possedere una adattabilità ai tessuti umani ed in modo particolare al sangue, avessero le medesime proprietà verso i tessuti dei comuni animali da esperimento in modo da poterne stabilire anche il grado dell'eventuale azione patogena.

In alcune ricerche preliminari che fanno parte di un vasto complesso di studio sulla conoscenza dei ceppi in oggetto e di ceppi di specie affini, (che saranno oggetto di pubblicazione a parte, CIFERRI, REDAELLI e BESTA) si è rilevato come i ceppi stessi fossero sprovvisti di una vera e propria virulenza per il coniglio e per la cavia (iniettati per via endovenosa ed intraperitoneale) e per il topo (iniettato per via intratesticolare). Avendo notato però che alcuni degli animali in esperimento venivano a morte spontaneamente senza che essi presentassero all'esame anatomico lesioni di tipo specifico tali da poter loro attribuire la causa di morte, abbiamo pensato se non fosse possibile che tali microrganismi anziché commensali assolutamente inoffensivi dell'animale ospite, potessero a lungo andare adattarsi all'organismo stesso, modificando fors'anche la loro attività biologica, sino a determinare, se non delle vere e proprie lesioni specifiche responsabili di gravi alterazioni anatomiche, semplicemente delle modificazioni morfologiche, indici della presenza e della attività dei germi in seno all'organismo stesso.

* * *

In 12 conigli del peso medio di 2000-2500 gr. si iniettarono per via endovenosa 5 mg. di ceppo B 814 cresciuto per tre giorni in agar glucosato al 2 %, ed emulsionato in mortajo con soluzione fisiologica. Tale ceppo era stato isolato dal sangue di una malata di 20 anni in discrete condizioni generali, ricoverata per una sindrome di febbre: tutti gli esami clinici e radiologici, come pure le prove tubercoliniche, eseguite su di essa, avevano dato esito negativo.

Da due conigli fu prelevato dalla vena dell'orecchio dopo un'ora, 4 ore, e 24 ore dall'inoculazione tre cc.³ di sangue con i quali fu eseguita la semina, ciascuna volta con 0,30 cc.³ sui terreni di PETRAGNANI norm., agar glic., agar carote, agar glucos., agar Sabouroud, brodo glic., acqua patate, pancreatina; ottenendo crescita abbondante nelle prime due semine (dopo 1 ora e 4 ore) su quasi tutti i terreni escluso il PETRAGNANI, restando invece completamente negative le colture eseguite dal sangue prelevato dopo 24 ore. Sacrificati i due animali, dopo 48 ore si eseguirono retrocolture su vari parenchimi: cervello, polmone, milza, fegato, rene e sul sangue con semine negli stessi terreni, ottenendo da un animale crescita abbondante di miceti dal fegato, polmone e milza e nell'altro dal polmone e fegato e più scarsa dalla milza.

Poniamo in rilievo che il sangue anche in questa ricerca è rimasto sterile confermando così il dato precedente.

Gli altri 10 animali morirono o furono sacrificati all'incirca dopo 10, 30, 60, 90 giorni e 5 mesi dall'inoculazione.

Le lesioni riscontrate si possono così riassumere: nei *reni* evidenti segni di nefrite tubolare con rigonfiamento delle cellule, intorbidamento protoplasmatico, alterata colorabilità nucleare, scarsissima o assente reazione interstiziale: questi reperti sono assai più evidenti negli animali venuti a morte subito dopo o entro i tre mesi dall'inoculazione, mentre sono assai attenuati negli animali sacrificati più tardi. Nei *polmoni* nessun segno di reazione né di localizzazione. Nel *fegato* scarsissimi segni di degenerazione: nei primi giorni susseguenti all'inoculazione si constata solo un certo grado di vacuolizzazione protoplasmatica che poi scompare in seguito. Sempre almeno un mese dall'inoculazione iniziale dei miceti si osserva la comparsa di piccolissime formazioni situate irregolarmente nel parenchima epatico, esse sono costituite da accumuli di cellule istiocitarie di varia morfologia, con qualche plasmacellula e qualche forma sinciziale, accompagnate spesso da stravasi ematici e dalla vicina presenza di alcune aree di necrosi parenchimale. Con le colorazioni specifiche non si mettono in evidenza forme miceliali. Vogliamo sottolineare che questi reperti di accumuli cellulari che sono situati proprio in seno alle travate dell'organo non sono da ritenersi abituali né vanno confusi con le infiltrazioni parvicellulari perivasali e con gli accumuli di cellule linfocitoidi negli spazi portobiliari che si frequentemente si verificano, come del resto anche nei nostri casi, in svariate condizioni normali e patologiche nel parenchima epatico. Nella *milza* abbiamo constatato in quasi tutti i casi solo una modestissima reazione pulpale; in un solo caso è stato ritrovato in corrispondenza della parte periferica dei follicoli il deposito di una sostanza omogenea con le reazioni cromatiche dell'amiloide, circondata però da accumuli di leucociti allungati in via di involuzione. Data l'unicità del reperto noi non vogliamo né possiamo attribuirgli particolare significato, vogliamo solo prospettare l'importanza che potrebbe avere se confermata, sia nel parenchima splenico, sia la presenza di aree necrotiche (tipo GANDI-GAMMA) sia la formazione di zone amiloidi.

I risultati ottenuti in questa serie di animali ci confermano sulla scarsa virulenza o per lo meno sulla mancanza di una patogenicità spiccata del ceppo inoculato. Tale constatazione del resto non ci sorprende affatto, in quanto il problema della virulenza — in campo micologico — in grado ancor maggiore che per altri germi, è soprattutto un problema di disposizione dell'organismo e di adattamento del germe. È ben conosciuta l'assenza di patogenicità, per gli animali da esperimento, di funghi isolati dalle lesioni micetiche anche di una certa gravità dell'uomo (ad es. v. p. r. le *torulopsis* di REDAELLI, BESTA, CAVALLERO). Molto probabilmente si tratta di speciale resi-

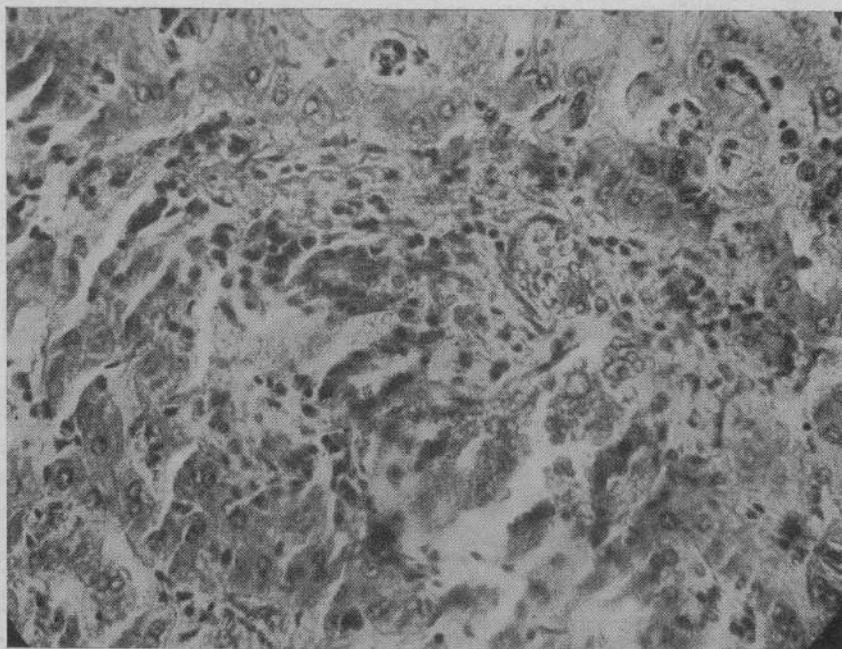


Fig. 1.

Fegato: Infiltrato con stravasamento ematico e formazione sinciziale.

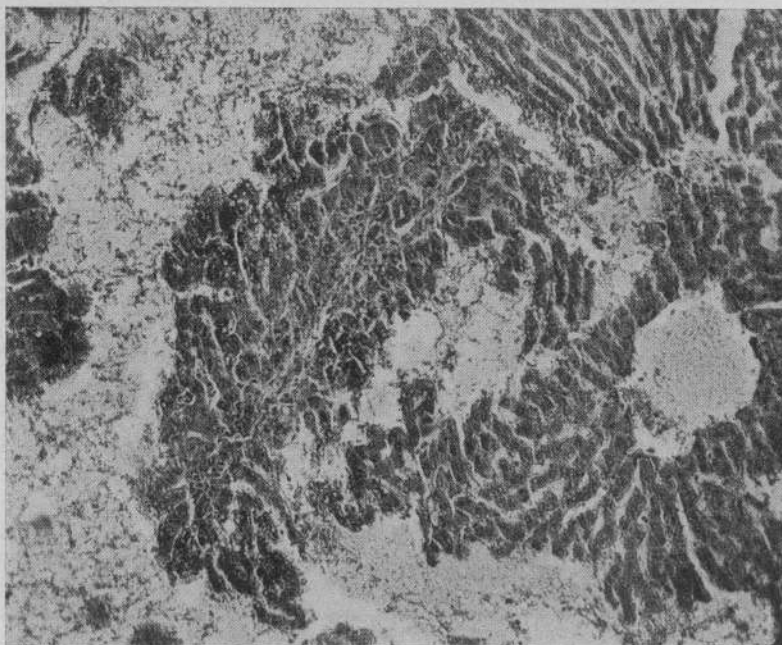


Fig. 2.

Fegato: Aree necrotiche e diffusa reazione perivasale.

stenza degli organismi in esame il che non esclude però una patogenicità per altre specie. Nel caso presente ciò che ci preme di mettere in evidenza è il fatto che a parte le lesioni spleniche che, se confermate, avrebbero un valore biologico non indifferente, i funghi inoculati pur non essendo dotati di virulenza lasciano per così dire traccia del loro passaggio nell'organismo dell'animale sperimentalmente infettato. Non è certo possibile pronunciarsi per ciò che riguarda il valore patogeno delle lesioni riscontrate. Non va dimenticato però che l'osservazione dopo l'inoculazione non ha oltrepassato i 5 mesi; e che nelle, sia pur lievi alterazioni epatiche sono assenti del tutto i segni di fibrosi. Ciò non fa escludere, pur senza poterla asserire con sicurezza, l'eventualità di una latente azione patogena, e la possibilità di nuove riprese morbose. Va tenuto conto poi dell'indubbio stato di allergizzazione che questo genere di infezione induce nell'organismo ospite.

Le lesioni renali possono con la loro evoluzione essere considerate come l'indice del passaggio dei microrganismi. Infatti l'aver riscontrata una maggiore gravità delle lesioni tubolari nei tempi vicini all'inoculazione e dei germi indica come di tali lesioni debba essere responsabile l'eliminazione dei germi. In seguito invece, cessando l'eliminazione, si ha se non il ripristino assoluto, il miglioramento notevole delle condizioni renali. Questo fatto può essere messo in rapporto anche con la constatazione che la batteremia permane positiva solo nelle prime ore per scomparire già dopo 24 ore. Ciò può essere ben spiegato da un lato con la eliminazione precoce attraverso il rene, che viene appunto ad essere leso, dall'altro con la captazione progressiva dei miceti circolanti da parte dei cosiddetti organi filtro, polmone, fegato, milza (E. MORELLI) dimostrata anche dalla positività batteriologica delle retroculture di questi visceri di fronte alla negatività di quelle eseguite su gli altri parenchimi.

Da un punto di vista più strettamente batteriologico interessa il fatto, che mentre i miceti sono stati isolati dal sangue dell'individuo portatore sul terreno di PETRAGNANI colle modalità abitualmente eseguite nell'Istituto per la ricerca del bacillo di Koch, la semina del sangue degli animali inoculati è riuscita positiva su molti degli altri terreni adoperati e negativa col PETRAGNANI. Ciò indica che l'isolamento primitivo non è stato accidentale nè da interpretarsi dovuto ad inquinamento perchè, se così fosse stato, anche la seconda volta la semina su PETRAGNANI avrebbe dovuto essere abbondante. È verosimile quindi che l'isolamento primitivo sia avvenuto di fronte a una batteriemia di grado piuttosto notevole del soggetto portatore. Del resto che il nostro reperto non sia una banalità occasionale, resta pure indirettamente confermato dalle recenti ricerche di MÜHLENS il quale è riuscito ad isolare una volta dal sangue e due volte dall'urina di soggetti umani dei ceppi di cefalosporidi. Appare perciò logico il pensare che l'estendere sempre più le ricerche sistematiche di bacilleemia del tipo di quelle che si praticano nel nostro Istituto, sul sangue o sull'urina possa portare in futuro all'isolamento di nuovi ceppi miceliali dello stesso o di analogo tipo.

Dal punto di vista clinico poi questo genere di ricerche dimostra un notevole interesse. Infatti, pur senza tener conto delle molteplici e più note manifestazioni cutanee susseguenti ad infezioni miceliali, bisogna por mente che dal gruppo delle infezioni genitali di origine e di eziologia poco studiate, recenti ricerche di PUTSCHAR e MÜHLENS hanno permesso di isolare oidi e sporotricchi; e ricordare anche le molto conosciute forme morbose a sintomatologie alternate di malessere e febbre, a gran parte delle quali non è possibile attribuire nessuna sicura eziologia. È assai probabile che molte di queste forme debbano essere sostenute — come nel caso da noi descritto — da infezioni miceliali allo stato latente e che solo a periodi alterni danno segno clinico di sé.

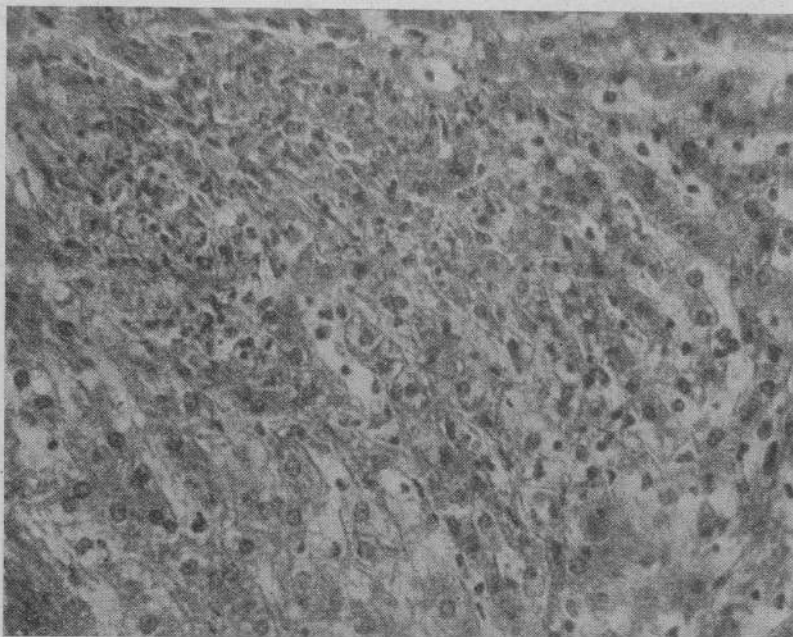


Fig. 3.

Fegato: Nodulo infiltrativo.

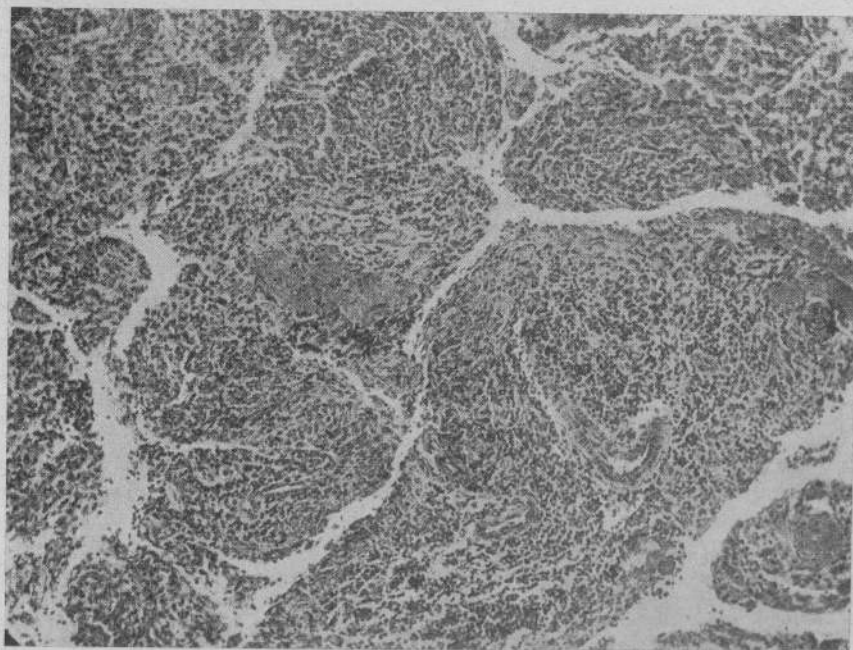


Fig. 4.

Milza: Area necrotica amiloidea in un follicolo.

RIASSUNTO

Gli AA. hanno inoculato endovena nel coniglio un ceppo di *Cephalosporium* isolato dal sangue umano ed hanno riscontrato lesioni di vario tipo nel rene, nel fegato e nella milza. Essi prospettano la possibilità che tale micete — capace di azione patogena larvata nel coniglio — possa essere anche l'agente eziologico di alcune forme morbose ancora poco note della patologia umana.

RÉSUMÉ

Les Auteurs ont inoculé le lapin, par voie intraveineuse, avec une souche de *Cephalosporium* isolée du sang humain, et ont rencontré des lésions variées au niveau du foie, du rein et de la rate. Ils émettent la possibilité que ce mycète — capable d'action pathogène larvée, chez la lapin — pourrait être aussi l'agent étiologique de certains syndromes morbides encore peu connues dans la pathologie humaine.

SUMMARY

The authors treated rabbits with endovenous inoculations of *Cephalosporium* stock isolated from human blood, and encountered various types of lesions in the kidneys liver and spleen. They consider the possibility that this mycelium — capable of occult pathogenic action in the rabbit — may also be the etiologic agent of some forms of human pathology, which have received little notice.

ZUSAMMENFASSUNG

Verff. impften auf intravenösem Wege in Kaninchen, einen, aus menschlichem Blut isolierten, *Cephalosporium*stamm und beobachteten verschiedenartige Läsionen in der Niere, der Leber und der Milz. Verff. stellen die Möglichkeit in Aussicht, dass ein solcher Micete — fähig eine vernünftige pathogene Wirkung im Kaninchen ausüben — auch den etiologischen Erreger einiger, in der menschlichen Pathologie noch wenig bekannten, Krankheitsformen darstellen könne.

BIBLIOGRAFIA

- BESTA B. — Le torulopsidacee nella patologia umana. « Boll. I. S. M. » F. 9, 1933.
 CAVALLERO C. — Observations sur la biologie du champignon du muguet. « Bull. Soc. Microbiologie » F. 7, 1937.
 MÜHLENS K. J. — Beobachtungen an drei *Cephalosporien*stämmen die aus menschlichem Blut und Harn gezüchtet wurden. « Zbl. Bakter. orig. » Bd. 142, N. 3-4, 1938.
 PUTSCHAR. — Citato da Mühlens.
 REDAELLI P. — Il problema delle *Torulopsidacee* e dei loro rapporti con l'uomo e con la patologia umana studiato particolarmente in Italia. (Blastomiceti e blastomicosi). « Riv. di Biol. » vol. XII, fasc. III-IV, 1939.

329229

58744



