

Misc. B-77/67.

16

PROF. PLINIO BARDELLI



Il contributo di Tizzoni al differenzia-
mento dei tipi del bacillo tetanico
in rapporto alle moderne conoscenze

Esemplare fuori commercio per
la distribuzione agli effetti di
legge.

ESTRATTO DA "MEDICINA E BIOLOGIA" - VOL. III, 1943-XXI

PROF. PLINIO BARDELLI

Il contributo di Tizzoni al differenzia-
mento dei tipi del bacillo tetanico
in rapporto alle moderne conoscenze

ESTRATTO DA "MEDICINA E BIOLOGIA" - VOL. III, 1945 XXI

ROMA - TIP. DEL SENATO DEL DOTT. G. BARDI

PLINIO BARDELLI

IL CONTRIBUTO DI TIZZONI AL DIFFE-
RENZIAMENTO DEI TIPI DEL BACILLO
TETANICO IN RAPPORTO ALLE MODERNE
CONOSCENZE

IL 5 aprile 1889 Guido Tizzoni comunicava alla R. Accademia di Medicina di Torino di avere coltivato in purezza il bacillo del tetano e nello stesso mese la comunicazione veniva pubblicata in « Riforma Medica ».

Il 14 maggio successivo, nel n. 20 di « Allg. Wiener Zeitung », compariva una Nota del Kitasato il quale informava di avere conseguito il 27 aprile identico risultato.

La brevità dell'intervallo non può annullare la precedenza spettante al Tizzoni, precedenza riconosciuta da molti AA. stranieri che sogliono designare il bacillo del tetano col nome di « bacillo di Nicolaier-Tizzoni », ma salvo poche eccezioni (Tiberti, Centanni, Forni) sistematicamente ignorata dagli scrittori italiani.

La coltivazione in purezza del bacillo tetanico suscitò durante l'ultimo decennio del secolo scorso, in Italia nella scuola di Tizzoni e in Germania in quella del Behring, un intenso fervore di ricerche dirette a riconoscerne i caratteri culturali e le proprietà biologiche, a studiare la natura e l'azione della sua tossina ed i fenomeni immunitari da questa determinati per la pratica applicazione alla profilassi ed alla terapia del tetano.

Durante l'evolversi di questo meraviglioso complesso di lavoro alcune osservazioni di Tizzoni formarono oggetto di una particolare discussione fra il Tizzoni stesso ed il Behring, originando tutta una serie di importanti ricerche i cui risultati dovevano trovare piena conferma ai nostri giorni.

*
* *
*

Tizzoni, in base agli elementi desunti dal confronto dei risultati separatamente conseguiti da lui e dal Behring, sperimentando ciascuno con le proprie colture e con la propria tossina, aveva avuto occasione di rilevare alcuni caratteri che distinguevano le sue colture da quelle del Behring. In particolare aveva osservato differenze assai notevoli che apparivano nella scala della sensibilità degli animali da esperimento verso i due veleni.

Essendo poi intervenuto il reciproco scambio delle tossine e avendo potuto il Tizzoni isolare da quella del Behring, preparata dalla coltura *in toto* non filtrata, lo stipite tedesco del bacillo tetanico, fu in grado di intraprendere una lunga serie di ricerche comparative i cui risultati concordarono pienamente con quanto in precedenza aveva colpito la sua attenzione.

Tralasciando di richiamare un complesso di dati sperimentali interessanti per quell'epoca ma che oggi appaiono di secondaria importanza, ci fermeremo invece sul punto principale che, esaminato allo stato attuale, assume uno speciale significato.

*
* *
*

Come si è detto, Tizzoni confrontando i propri risultati con quelli del Behring aveva notato una differenza nella successione degli animali da esperimento nella scala di sensibilità verso la tossina tetanica. Infatti mentre secondo Behring in detta scala si seguivano in ordine decrescente: cavia - topino - coniglio; secondo Tizzoni si aveva invece: cavia - coniglio - topino.

Questa differenza apparve poi come elemento costante nelle esperienze fatte da Tizzoni usando comparativamente la propria tos-

sina e quella avuta dal Behring, dalle quali risultò che la m. d. m. di ciascuna tossina era rappresentata dai seguenti valori:

*IL CONTRIBUTO
DI TIZZONI AL
DIFFER. ECC.*

	Tossina « Behring »		Tossina « Tizzoni »	
	gr.	pro kg.	gr.	pro kg.
Cavia	0,00001		0,000006	
Topino	0,000025	» »	0,000025	» »
Coniglio	0,0025	» »	0,000015	» »

Quindi, di fronte a valori presso a poco equivalenti per il topino, appariva una evidente inversione degli ultimi due termini della scala per la tossina « Tizzoni », inversione dovuta alla notevole elevazione della sensibilità del coniglio di fronte a questa tossina. Ma anche altri fatti furono osservati portando l'attenzione sulla evoluzione del quadro sperimentale negli animali inoculati con le due tossine, in particolare nella cavia e nel coniglio, e precisamente una notevole prevalenza dei fenomeni clonici nei trattati con la tossina « Tizzoni » e dei fenomeni tonici in quelli inoculati con la tossina « Behring ».

In base a tutto ciò Tizzoni ritenne che le diversità riscontrate potessero dipendere da sostanziali differenze nella costituzione delle due tossine e formulò l'ipotesi che la tetanospasmia risultasse dal complesso di due frazioni determinanti l'una i fenomeni clonici, l'altra quelli tonici; conseguentemente, che alla presenza in proporzione diversa dell'una o dell'altra di queste frazioni fossero da attribuirsi le differenze di azione delle tossine, evidenziabili più facilmente nel coniglio per la sua spiccata sensibilità ai principî clonicizzanti.

Tale ipotesi, del resto, trovava appoggio anche nelle notevoli differenze osservabili nel quadro clinico del tetano dell'uomo nel quale Tizzoni in base alla sua numerosa casistica aveva distinto, pur con molte forme intermedie, due forme principali, una più lieve con predominanza dei fenomeni di rigidità, l'altra più grave caratterizzata dalla frequenza e dalla imponenza degli accessi tetanici.

In sintesi le differenze poste in evidenza nei due stipti di bacillo tetanico, rispettivamente nelle loro tossine, erano costituite dalla

diversa sensibilità degli animali da esperimento, specialmente del coniglio, e dal diverso quadro clinico in essi determinato.

Nessuna divergenza di vedute forse sarebbe sorta se, constatati i fatti, nel discuterli non si fosse abbandonata la giusta via che doveva condurre alla loro precisazione e interpretazione.

Tizzoni nelle differenze riscontrate volle vedere una indiscussa superiorità del suo stipite in confronto di quello del Behring, attribuendogli la esclusività della produzione di una tossina dotata di proprietà antigeni eccezionali con la quale egli poteva preparare una antitossina al di sopra di qualunque altra per il suo potere preventivo e curativo.

Il Behring, da parte sua, pur riscontrando le differenze segnalate da Tizzoni non volle convenire nell'interpretarle come indice di una possibile diversità dei due stipiti, ma ritenne si dovessero attribuire ora a modificazioni cui sarebbe andata incontro la tossina « Tizzoni », ora alla diversità di razza dei conigli usati per gli esperimenti, accennando anche in tono scherzoso che accogliendo le affermazioni di Tizzoni si sarebbe dovuto ammettere « l'esistenza di due specie di bacillo tetanico, quella italiana e quella tedesca ».

Effettivamente Tizzoni, in base ai risultati sperimentali, aveva prospettata e discussa la possibilità che il suo bacillo e quello del Behring appartenessero a due razze distinte, pur ammettendo la difficoltà di stabilire, ai fini di una categorica affermazione in tal senso, se le differenze capitali riscontrate dovessero ritenersi originarie in ciascun stipite piuttosto che acquisite. E per chiarire questo punto fondamentale aveva affidato al Righi una serie di esperienze, riuscite molto interessanti nel loro sviluppo, i cui risultati avevano portato a concludere che *con serio fondamento potevano riportarsi i due microrganismi in questione a due distinte varietà o razze*. Purtroppo, nonostante un'affermazione di tanta importanza derivante da una larga, seria e obiettiva sperimentazione, forse perché in tale epoca (1890-1900) due soli stipiti tetanici erano principalmente conosciuti, quello di Behring-Kitasato e quello di Tizzoni, la discussione sulla interpretazione dei risultati restò limitata ai due Maestri e andò poi esaurendosi in una serie di problemi collaterali che parvero al momento di maggiore interesse.

Dopo lungo silenzio la questione dell'esistenza di diversi tipi del bacillo tetanico tornò di attualità nel 1918 per opera di Tulloch. Questo A., avendo osservato che un siero antitetanico antimicrobico è più strettamente specifico di uno antitossico in quanto esso agglutina soltanto lo stipite usato per prepararlo, allestì sieri agglutinanti per un gran numero di ceppi tetanici e per mezzo dell'agglutinazione crociata giunse a dimostrare l'esistenza, prima di tre, e successivamente di quattro gruppi sierologici di bacilli tetanici. Affermò altresì ciascun tipo di bacillo tetanico essere dotato di un potere patogeno diverso, avendo osservato che i bacilli dei tipi II e III si trovano nelle forme di tetano gravissime e sempre mortali, mentre il tipo I è reperto frequente, senza dar luogo a malattia, nelle ferite di persone profilassate contro il tetano e causerebbe solo forme tardive della malattia (insorgenti oltre il 14° giorno) a mortalità relativamente bassa e spesso facilmente curabili e guaribili.

In tal modo Tulloch veniva a portare ampia conferma a quanto affermato da Tizzoni fino dal 1900 ed ancora sostenuto in seguito con l'autorità specifica derivantegli dal gran numero di osservazioni raccolte durante la guerra 1915-18 nella sua qualità di alto consulente per il tetano presso l'Esercito mobilitato (*).

Le ricerche nel campo del differenziamento sierologico degli stipiti di bacillo tetanico subito andarono estendendosi.

Nel 1924 Bauer trova a Pechino, oltre ai tipi I e III, un tipo nuovo, il V, molto frequente nelle piaghe dei tetanici e nelle deiezioni di persone perfettamente sane. Inoltre isola dall'uomo e dalla cavia una varietà immobile che va a costituire il tipo VI non essendo agglutinata da nessuno dei sieri relativi ai cinque tipi già differenziati.

Nel 1926 Bauer e Meyer studiando 120 stipiti isolati negli Stati Uniti ritrovano tutti i tipi già noti, ad eccezione del VI, e pre-

(*) Le osservazioni raccolte da Tizzoni durante la guerra 1915-1918 formarono oggetto di una relazione monografica al Ministero della Guerra, ricca di dati scientifici e statistici di notevolissimo interesse. È da lamentarsi che tale relazione non sia stata resa di pubblica ragione a simiglianza di quanto fu fatto in tutti gli altri Eserciti.

cisamente nelle seguenti proporzioni: I = 63,3 %; II = 7,5 %; III = 17,5 %; IV = 2,5 %; V = 5 %; però tre degli stipiti in esame non erano agglutinati da nessuno dei sieri dei sei tipi noti. Sempre nel 1926 Bauer, Tang, Yü e Tenbroech identificano il tipo VII e Coleman e Meyer riconoscono l'VIII.

Infine nel 1928 Coleman e Gunnison identificarono il tipo IX. Però di fronte al moltiplicarsi, nel volgere di pochi anni, delle indagini per la distinzione sierologica dei vari tipi di bacillo tetanico, mancano completamente quelle sulla possibile coesistenza di differenze nell'azione biologica di ciascun tipo.

Per questo nel 1926 volemmo trasportare la ricerca nel campo che appariva trascurato da tutti gli AA., ricordati, tanto più che ci trovavamo in condizioni ideali di studio avendo a nostra disposizione, non solo gli stipiti originali « Tizzoni » e « Behring » che ci consentivano di riallacciarci alle vecchie esperienze di Tizzoni e di Righi, ma anche tre ceppi sierologicamente differenziati corrispondenti, rispettivamente, ai tipi I, II, III di Tulloch.

Le esperienze furono condotte con i seguenti nove stipiti di bacillo tetanico:

1. « Tizzoni », isolato da Tizzoni dall'uomo nel febbraio 1889.
 2. « Behring », isolato da Tizzoni nel 1899 dalla tossina inviatagli dal Behring.
 3. « Romano » isolato nel 1916 da un ferito di guerra colpito da forma gravissima di tetano.
 4. « Istituto Pasteur di Parigi », coltura originale del 3 ottobre 1924.
 5. « Washington 502 » = « Tulloch I »
 6. « Washington 503 » = « Tulloch II »
 7. « Washington 504 » = « Tulloch III »
- } avuti dal Laboratorio d'Igiene del Dipartimento del Tesoro di Washington.
8. « Carpano », isolato da Carpano nel settembre 1914 da un cavallo morto per tetano.
 9. « Giappone » avuto pel tramite del prof. Montejro dell'Istituto Butantan di San Paolo del Brasile.

Tutti questi stipiti erano stati da noi mantenuti nel terreno usato nel nostro laboratorio per la conservazione delle matrici.

Rimandiamo per i particolari delle esperienze al lavoro a suo tempo pubblicato limitandoci a riportare nella tabella i risultati ottenuti, e aggiungendo che essi hanno trovato piena concordanza, nelle linee essenziali, in quelli di analoghe ricerche di recente ripetute allo scopo di controllare la persistenza, o meno, dei caratteri differen-

ziali negli stipiti che all'epoca del precedente studio si trovavano da poco tempo in nostro possesso.

IL CONTRIBUTO
DI TIZZONI AL
DIFFER. ECC.

Indicazione del ceppo	m. d. m. p. 1 grammo Cavia ecc.	m. d. m. p. 1 grammo Topino ecc.	m. d. m. p. 1 grammo Coniglio ecc.	Rapporto m. d. m.	
				Cavia Topino	Cavia Coniglio
Tizzoni	0,0000025	0,000001	0,000001	1 : 4	1 : 4
Romano	0,0000025	0,000001	0,000001	1 : 4	1 : 4
Behring	0,0000005	0,000002	0,0000125	1 : 4	1 : 25
Giappone	0,0000005	0,0000012	0,0000075	1 : 4	1 : 25
Tulloch III	0,00000005	0,0000002	0,00000125	1 : 4	1 : 25
Tulloch II	0,0000005	0,000002	0,00005	1 : 4	1 : 100
Carpano	0,0000005	0,000002	0,00025	1 : 4	1 : 500
Pasteur	0,00000025	0,000001	0,000125	1 : 4	1 : 500
Tulloch I	0,00000025	0,000001	0,000125	1 : 4	1 : 500

Tali risultati ci portarono a concludere:

1° che prendendo come base per ciascun ceppo la m. d. m. per la cavia, quella del topino è rappresentata costantemente dallo stesso multiplo della dose della cavia e che conseguentemente il topino ha una sensibilità eguale per tutti i nove ceppi tetanici studiati;

2° che la m. d. m. per il coniglio è invece rappresentata da multipli di quella della cavia variabili entro limiti molto lati (da 4 a 500) a seconda del ceppo usato e che quindi il coniglio presenta una sensibilità molto diversa di fronte ai vari stipiti di bacilli tetanici;

3° che alla diversità sierologicamente stabilita dei tipi di Tulloch, almeno per il I, II, III che avemmo a disposizione, corrisponde anche una differenza nelle proprietà biologiche delle rispettive fossine evidenziabile con la prova comparativa cavia-coniglio;

4° che pertanto la prova comparativa cavia-coniglio può essere utilmente impiegata per il differenziamento biologico ed eventualmente per la classificazione dei vari stipti di bacillo tetanico; 5° che biologicamente i ceppi « Pasteur » e « Carpano » si comportano come il tipo I di Tulloch, il « Behring » e il « Giappone » come il tipo III, mentre gli stipti « Romano » e « Tizzoni » non corrispondono a nessuno dei tre tipi sierologici di Tulloch che potemo usare per le nostre esperienze.

* * *

Se ora vogliamo confrontare quanto affermato a suo tempo da Tizzoni, e sostenuto nella discussione col Behring, con le risultanze delle ricerche degli AA., che si occuparono del differenziamento sierologico dei vari tipi di bacillo tetanico e con quelle dei nostri esperimenti appare evidente quanto appresso:

1° Dopo lunga serie di anni si è trovato conservato il carattere della diversa azione biologica nei riguardi del coniglio negli stipti, rispettivamente nelle tossine, « Behring » e « Tizzoni »;

2° Lo stesso carattere è stato riscontrato anche negli altri sette stipti studiati si da poterli riunire, in base ad esso, in quattro gruppi distinti;

3° Al differenziamento sierologico dei tre tipi I, II, III di Tulloch corrisponde anche un differenziamento biologico fondato sulla diversità dell'azione delle rispettive tossine nei riguardi del coniglio;

4° È risultata dimostrata l'esattezza dell'affermazione di Tizzoni circa l'appartenenza a due tipi diversi del suo stipte e di quello del Behring;

5° Nelle osservazioni di Tulloch ha trovato conferma quanto sostenuto da Tizzoni e cioè che le differenze nelle forme cliniche di tetano sono da ritenersi in relazione alla diversità dei tipi di bacillo tetanico determinanti, nei diversi casi, la tossinfezione;

6° Resta dimostrato che il carattere biologico distintivo indicato da Tizzoni è un attributo fisso, tramandabile nelle successive generazioni, e pertanto elevabile a elemento differenziale fra i vari stipti di bacillo tetanico.

Conseguentemente si deve riconoscere l'esattezza dei punti fondamentali affermati e sostenuti da Tizzoni e la priorità del Tizzoni stesso nell'aver dimostrato fino dal 1900 l'esistenza di tipi diversi del bacillo tetanico biologicamente differenziabili.

IL CONTRIBUTO
DI TIZZONI AL
DIFFER. ECC.

BIBLIOGRAFIA

- BARDELLI P., « Annali d'Igiene », 1927, n. 6.
BAUER J. K., « Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. », 1924, n. 21.
BAGER J. K. e MEYER K. F., « The Journ. of Infect. Dis. », 1926, n. 58.
BAUER, TANG, Yü e TENBROECK, in COLEMAN e MEYER, loc. cit.
BEHRING E., « Fortschritten der Medicin », 1899; « Deutsch. Med. Wochenschr. », 1900, n. 2.
COLEMAN G. E. e MEYER K. E., « The Journ. of Infect. Dis. », 1926, n. 59.
COLEMAN G. E. e GUNNISON J., *Ibidem*, 1928, n. 45.
RIGHI L., « Giornale internazionale di Medicina pratica », 1901, nn. 15 e 14.
TIZZONI G., « Gazzetta degli Ospedali e delle Cliniche », 1900, n. 59; « Arch. f. exper. Pathologie u. Pharmakologie », Bd. XXVII, p. 440; « Memorie della R. Acc. delle Scienze dell'Istituto di Bologna », serie V, tomo IX, 1901.
TULLOCH W. J., « Proc. of the Royal Soc. of Med. », 1918, 90; « Proc. Am. Soc. Biol. » 1919, 90; « The Journ. of Hyg. », 1919, 28.

RIASSUNTO

Tizzoni nel 1900 aveva dimostrato esistere una netta differenza fra il suo stipte di bacillo tetanico e quello del Behring (allora i soli principalmente noti) rivelabile in via biologica per la diversa azione delle rispettive tossine nei confronti del coniglio il quale veniva così ad assumere una posizione diversa, con l'una o con l'altra tossina, nella scala di sensibilità degli animali da esperimento. In base alle ricerche sue e della sua scuola Tizzoni aveva fino da allora affermato l'esistenza di tipi diversi del bacillo tetanico.

Le ricerche di Tulloch, comparse nel 1918, e quelle successive di altri Autori hanno portato a riconoscere oggi nove tipi di bacillo tetanico differenziabili sierologicamente.

Bardelli, sperimentando su nove stipti di bacillo tetanico, compresi quelli originali di Behring e di Tizzoni che avevano servito alle ricerche di quest'ultimo, ha dimostrato che al differenziamento sierologico secondo Tulloch (almeno per i tipi I, II e III, che egli ebbe a disposizione) corrisponde anche un differenziamento biologico fondato su caratteri fissi tramandabili in lunga serie di successive generazioni, evidenziabile a mezzo delle rispettive tossine con la prova comparativa cavia-coniglio.

Si deve pertanto riconoscere al Tizzoni la priorità nell'aver affermato e dimostrato fino dal 1900 l'esistenza di tipi diversi del bacillo tetanico.

98010

~~319912~~

Esemplare fuori commercio per⁴⁵¹
la distribuzione agli effetti di
legge.





