

Mano B 73 |

68

G. GIUNCHI

SU DUE CASI DI INFEZIONE TIFOIDEA
CON ANOMALO QUADRO CLINICO; PAR-
TICOLARI CARATTERISTICHE BIOLO-
GICHE DEI CEPPI TIFICI ISOLATI.

Estratto dal BOLLETTINO E ATTI
DELLA R. ACCADEMIA MEDICA DI ROMA

Anno LXVIII (1942-XX) - Fasc. 4



DITTA TIPOGRAFIA CUGLIANI
ROMA - VIA DELLA PACE, 35
1942-XX

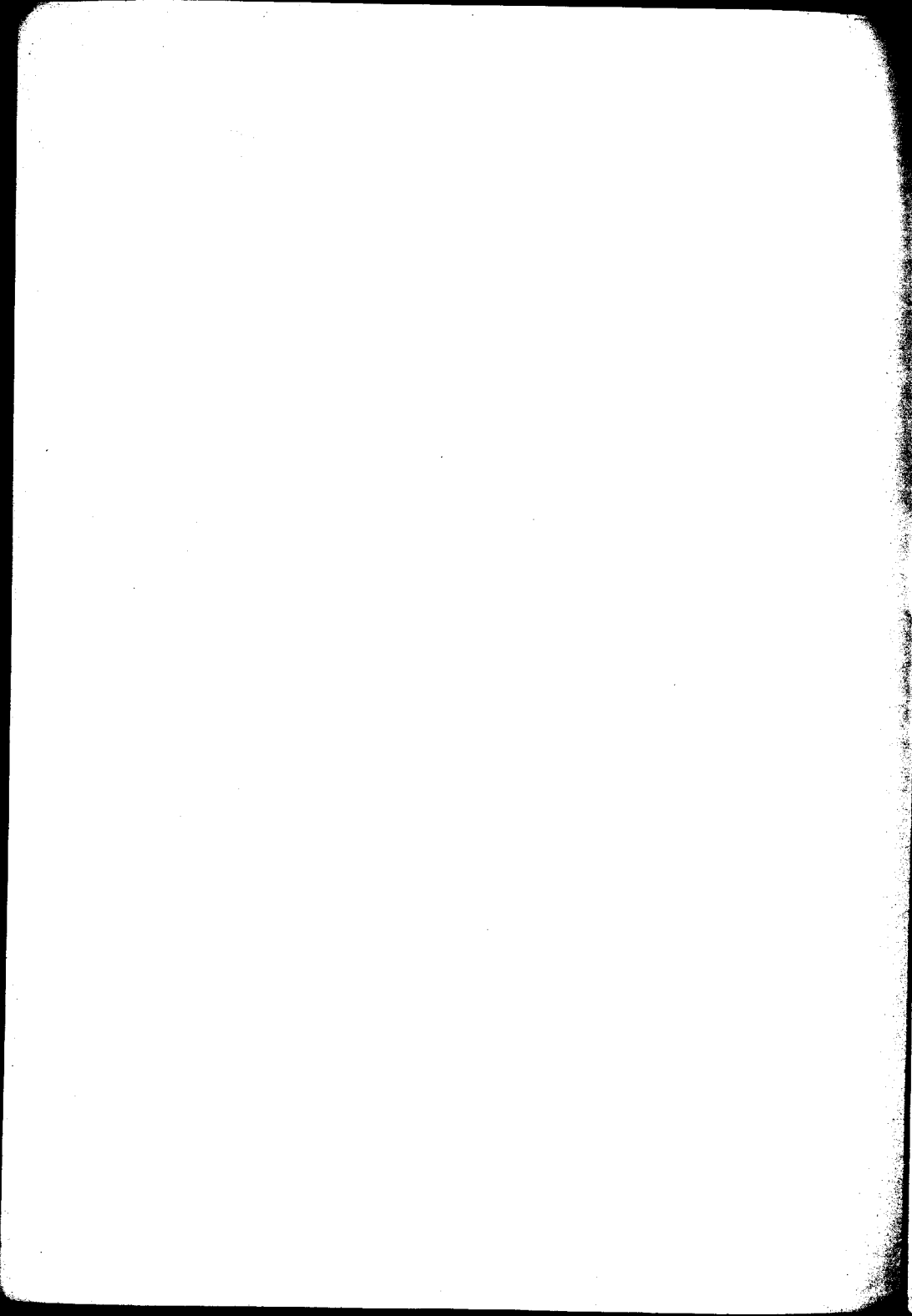


ISTITUTO DI CLINICA MEDICA GENERALE DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA
Direttore: PROF. C. FRUGONI

G. GIUNCHI

Su due casi di infezione tifoidea con anomalo quadro
clinico; particolari caratteristiche biologiche dei
ceppi tifici isolati.

*Comunicazione alla Seduta del 25 aprile 1942-XX
della Reale Accademia Medica di Roma*



La possibilità che l'infezione tifoidea insorga e decorra nell'uomo con un quadro clinico notevolmente diverso da quello tipico, schematico, scolasticamente inquadrato nell'ambito dei quattro settenari di malattia, è nozione di dominio comune.

Potrebbe sembrare pertanto, che la descrizione di due casi di tifo, anche se caratterizzati da notevoli singolarità di sintomatologia e di decorso, dovesse avere un interesse assai limitato.

In questi due malati però, le atipie cliniche si accompagnarono a tutta una serie di reperti batteriologici talmente singolari e così strettamente correlati con altri fenomeni di ordine più generale, che ne risulta giustificata una pubblica illustrazione.

Lo studio dei due pazienti e dei germi, da essi isolati, ha avuto origine da una osservazione casuale, fatta da MAGRASSI [1-2] nel corso delle sue ricerche sopra un fattore ad azione autobatteriostatica presente in alcuni ceppi stafilococchi.

Questi germi, chiamati « modificati » in contrapposto ai normali, avevano la singolare proprietà di manifestare una profonda inibizione moltiplicativa se coltivati su determinati terreni, per cui, ad esempio, potevano sviluppare regolarmente su piastre di agar-sangue e non crescevano affatto su agar-semplice, oppure crescevano dissociando in colonie macroscopiche (macrocolonie) e coloniette visibili solo microscopicamente (microcolonie). Questo caratteristico comportamento è stato denominato da MAGRASSI « fenomeno batteriostatico » e ne è stata definita la genesi ponendo in evidenza che il vizio dell'attività moltiplicativa degli stafilococchi modificati è causato da un fattore dissociabile dal germe e con individualità biologica da questo distinguibile, il quale unendosi al germe, ne modifica le caratteristiche biologiche. Per questo elemento MAGRASSI ha proposto il nome di « batteriostato » ed ha dimostrato che esso è trasmissibile *in vivo* e *in vitro* da germi modificati a germi normali, i quali ultimi acquistano così la capacità di manifestare il fenomeno batteriostatico.

Durante lo studio di ceppi di stafilococco isolati da vari materiali umani (urine, pus, ecc.) accadde a MAGRASSI di trovare stafilococchi modificati in un sedimento urinario. Un tale reperto, come risulta da studi inediti di GIORDANO, rivestiva carattere di eccezionalità in quanto nelle comuni malattie, tifo compreso, non è dato in genere trovare stafilococchi modificati, i quali con notevole frequenza sono invece trovati presenti nei processi morbosi a tipo di sepsi lente e tra queste nelle endocarditi lente. Volli pertanto studiare il più completamente possibile la malattia, da cui provenivano questi stafilococchi portatori di batteriostato.

Effettivamente dall'anamnesi, dall'obiettività e dal decorso di questa paziente emersero alcune singolarità degne di rilievo e speciali caratteri biologici mostrò il germe, agente causale del processo morboso.

Passo senz'altro a descrivere assai brevemente il caso clinico.

F. Emma, a. 40, coniugata — Negativa l'anamnesi familiare, nulla da rilevare nella fisiologica.

Ha sempre goduto ottima salute fino ad un mese e mezzo prima dell'ingresso in Clinica. Da allora ha presentato tre periodi febbrili: il primo di 10 giorni, il secondo di 6, il terzo in atto al momento dell'entrata, separati da due intervalli di 6-7 giorni di apiressia. La febbre è stata remittente nel primo, subcontinua nel secondo e terzo ciclo febbrile, cominciato quest'ultimo una quindicina di giorni prima dell'ingresso in Clinica. Massime temperature sui 39-39,5. Ad eccezione della febbre, di una modesta astenia ed anoressia, nessun'altro disturbo.

Entra in Clinica il 7 febbraio 1940.

L'obiettività al momento dell'ingresso era in sintesi la seguente:

Condizioni generali discrete. Modesta anemia. Cute sudorante. Pannicolo adiposo abbondante. Polso di media frequenza, ritmico, uguale. Non dicrotismo. Lingua arida, patinosa, leggermente arrossata e disepitelizzata ai margini ed alla punta.

La milza debordava un dito dall'arco costale e raggiungeva in alto la VIII costa.

Negativo era il resto dell'esame obiettivo.

Le ricerche collaterali dimostravano: tracce di urobilina e di albumina nell'urina; sangue: Hb = 60, Gl. r. 3.650.000, V.G. 0,83; Gl. b. 8.800 (neutr. 76, monociti 6, linfociti 18); pressione arteriosa Mx. 120, Mn. 80; cutirreazione alla tubercolina leggermente positiva; siero reazioni per la lues negative; ricerca del parassita malarico in goccia spessa

negativa; reazione di Takata-Ara negativa; radiografia toracica negativa; elettrocardiogramma normale.

Il decorso fu caratterizzato dalla persistenza di febbre intermittente, quotidiana con temperature serali di 40° e mattutine di 36° - $35,5^{\circ}$. La febbre insorgeva con brivido scuotente e cadeva con profuse sudorazioni. Per 45 giorni ha così continuato con assoluta regolarità, invariata restando l'obiettività della malata. Soltanto alla terza iniezione di un vaccino preparato con un germe (isolato dalle feci della malata) di cui più avanti saranno illustrati i caratteri, la temperatura accennò a diminuire fino ad aversi alla fine del mese di aprile e nella prima metà di maggio, una condizione di apiressia abbastanza stabile, interrotta soltanto di tempo in tempo da qualche punta febbrile. Dimessa il 12 maggio, la p. ritornava ben presto a noi perchè, dopo soli 10 giorni di permanenza a casa aveva di nuovo presentato febbre oltre i $39^{\circ}5$. In Clinica la temperatura persistette con andamento remittente-intermittente fino all'11 giugno. Da tale epoca la p. rimase definitivamente apirettica. In complesso dunque una malattia durata 6 mesi con febbri elevatissime, intermittenti quotidiane ad eccezione di un periodo iniziale di 10 giorni di febbre continua consistendo l'unica obiettività in un lieve tumor di milza.

Non credo che un simile caso si presti a molte considerazioni di ordine clinico diagnostico poichè anche in questo, come in tanti altri casi di infezione tifoidea a decorso atipico, porre una diagnosi esatta sarebbe stato impossibile senza l'ausilio delle ricerche batteriologiche.

Furono precisamente queste che da un lato chiarirono l'eziologia del processo morboso, dall'altro gli conferirono il carattere di rarità più sopra affermato.

Sei emocolture e una mielocoltura praticate durante cinque mesi furono costantemente negative; le agglutinzioni per tifo, paratifi e malfese furono positive 1:1600 per il tifo; era un'agglutinazione granulare, di tipo somatico.

Dalle urine si isolarono per ben tre volte degli stafilococchi presentanti *in vitro* il fenomeno batteriostatico.

Del massimo interesse fu il reperto batteriologico dalle feci. Da queste si riuscì ad isolare più volte un germe mobile gramnegativo, che possedeva alcuni caratteri fondamentali del b. di Eberth (capacità fermentative, agglutinabilità coi sieri-test) ma si comportava in modo del tutto speciale nei riguardi dello accrescimento.

Su opportuni terreni di coltura questo ceppo manifestava nelle prime fasi di sviluppo un fenomeno di inibizione della sua attività moltiplicativa, che ricordava per certi suoi aspetti il fenomeno batteriostatico di MAGRASSI.

Infatti tanto questo ceppo tifico, quanto gli stafilococchi modificati crescevano bene su agar-sangue, mentre andavano soggetti ad una marcata inibizione alla crescita sulle piastre di agar nutritivo al brodo di cavallo (agar-semplce).

La coesistenza nel mio caso di stafilococchi, portatori di batteriostato, e di questo ceppo tifico anomalo, riprodotto o simulante un fenomeno batteriostatico era una semplice accidentalità o non era invece la risultante dell'azione esercitata da un comune fattore su entrambi i germi? Nel nostro caso di un fattore batteriostatico interessante sia gli stafilococchi che il tifo? Era logico porsi questo quesito, per rispondere al quale iniziai un sistematico studio dei ceppi di tifo della nostra collezione di laboratorio e di quelli di volta in volta isolati dal sangue dei tifici ricoverati nella nostra Clinica.

Infatti il primo passo nella soluzione del problema era quello di stabilire la frequenza con la quale si presentavano all'occhio di un osservatore, che li esaminasse con deliberato proposito dei ceppi tifici simili al mio. Una seconda fase dello studio sarebbe poi stata la ricerca della frequenza con cui ceppi stafilococchi e tifici, analogamente lesi nelle loro capacità moltiplicative, potevano albergare in uno stesso organismo. Esaminai 60 ceppi di tifo, i quali mostrarono tutti un accrescimento normale ad eccezione di un ceppo, che riproduceva fedelmente le anomalie di crescita, già osservato da me nel primo caso.

Questo secondo ceppo era stato isolato da una emocoltura di un malato ricoverato sei mesi prima nella nostra Clinica per un'affezione febbrile, la quale aveva ben poche caratteristiche cliniche dell'infezione tifoidea, come si può giudicare dal seguente brevissimo cenno riassuntivo tolto dalla cartella clinica.

B. Luigi, a. 27, coniugato. Nulla di notevole nell'anamnesi fisiologica.

Entrambi i genitori sono morti per affezioni tubercolari. Ad eccezione di numerosi foruncoli che lo affliggono frequentemente il p. è stato sempre bene fino al maggio 1939, quando ebbe per 10 giorni febbre remittente sui 38°5 senza particolari disturbi. Nel luglio ebbe per dieci giorni febbre e in coincidenza un foruncolo alla regione glutea S. Un sanitario riscontrò in quell'occasione che la milza debordava un dito dall'arco, molle.

Il primo settembre cominciò ad avere febbre a 38°5, la quale continuò sui 38°-40° con remissioni mattutine accompagnate da abbondanti sudorazioni fino all'ingresso in Clinica, avvenuto il 26 settembre 1939.

Quivi continuò a presentare febbre oscillante tra 37-37°2 il mattino e 39°5 la sera, con polso tra 80 e 116.

L'obiettività si riassumeva in un decadimento delle condizioni generali e nella tumefazione splenica (la milza giungeva in alto alla VII costa e debordava dall'arcata costale circa tre dita, di consistenza notevolmente aumentata). Le ricerche collaterali dimostravano: esame urine: modica urobilina; sangue: Hb. 84, Gl. r. 3.520.000, V. gl. 0,83, Gl. b. 3.400 (neutro. 57, eos. 1, bas. 2, monociti 10, linfociti 30) cutireazione alla tubercolina negativa, la ricerca del parassita malarico più volte ripetuta ed eseguita anche dopo splenocontrazione e nel puntato sternale fu sempre negativa; radiografia toracica negativa. Sieroreazioni per lues negative.

Anche in questo caso la chiave diagnostica fu offerta dalle ricerche batteriologiche, le quali si possono così riassumere: sieroreazioni per tifo, paratifi, malse più volte ripetute su vari ceppi e in diversi laboratori costantemente negative; quattro emocolture in varie fasi della malattia costantemente negative. Un'unica emocoltura eseguita casualmente dopo la splenocontrazione, praticata per la ricerca dei plasmodi, riuscì positiva per un germe con i caratteri antigenici e fermentativi del b. tifico.

Era questo il germe capitato al mio esame tra i ceppi di collezione. Dopo la splenocontrazione la febbre cadde per lisi in 6 giorni ed il p. alla metà di ottobre divenne apirettico stabilmente. In complesso una malattia durata 45 giorni con febbri remittenti e intermittenti, con profusissime sudorazioni e assenza di tutti i segni classici dell'infezione tifoidea ad eccezione della splenomegalia e della leucopenia. Da segnalare la negatività costante delle sieroreazioni, più volte ripetute. Il caso in esame si poteva dunque classificare come un tifo, decorso con anomalo quadro clinico, evenienza questa abbastanza frequente, e che non è tale da conferire speciale interesse al caso in questione; tanto che su di esso non si era fermata la nostra attenzione prima che le nuove ricerche batteriologiche ci spingessero a riprenderlo in esame. Constatata la identità di comportamento del ceppo tifico di collezione proveniente da questo malato con quello già in mio possesso, mi preoccupai di rintracciare questo secondo paziente, che era ormai uscito dalla nostra Clinica da oltre mezz'anno. Per una fortunata evenienza ciò mi fu possibile. Nel maggio 1940 lo ritrovai in ottime condizioni generali; l'esame obiettivo era negativo ad eccezione del reperto splenico: la milza debordava dall'arco un dito, dura, sottile e giungeva in alto alla VII costa. Le sieroreazioni furono positive per il tifo e paratifi al titolo di 1:800 (nel marzo il p. aveva praticato la vaccinazione antitifica preventiva). L'esame delle feci riuscì negativo per il b. di Eberth. Ma il reperto che mi sembra più interessante ai

fini delle mie ricerche provenne dall'esame delle urine. Nel sedimento urinario isolai degli stafilococchi albi; il 25 % di tutti i germi coltivati apparve costituito da stafilococchi albi sicuramente modificati, cioè presentanti un evidente fenomeno batteriostatico.

Anche in questo caso si ripeteva così la coincidenza, già notata nel primo malato, della contemporanea presenza di stafilococchi con fenomeno batteriostatico accanto ad un ceppo tifico con inibizione moltiplicativa.

Nel primo caso le sistematiche ricerche batteriologiche, originate dalla constatazione di stafilococchi modificati, avevano condotto alla scoperta di un ceppo di tifo anomalo; in questo secondo malato, battendo la via inversa, dalla constatazione delle singolari caratteristiche biologiche del ceppo tifico si era giunti alla dimostrazione di stafilococchi modificati.

I due casi si completavano pertanto a vicenda.

Esposti i dati più salienti della sintomatologia e del decorso dei miei due casi, passo ad esporre le principali proprietà dei ceppi tifici isolati.

Premetto che le caratteristiche biologiche dei due ceppi sono del tutto identiche perciò quanto segue ha valore ad un tempo per entrambi i ceppi.

* * *

Si tratta di un batterio gramnegativo, mobile, lungo 2-4 micron con numerose forme di tipo filamentoso.

Aerobio facoltativo può sviluppare entro limiti di temperatura abbastanza ampi con optimum a 37°.

Sviluppa abbondantemente sui terreni liquidi (brodo semplice, brodi zuccherati, brodi tornasolati), dando uniforme intorbidamento. In brodo con aggiunta di glucosio, galattosio, levulosio, mannite, maltosio, produce acido non gas, non attacca il lattosio, saccarosio e l'inulina.

Già dalle prime colture apparve costantemente un comportamento di crescita del tutto insolito sui terreni solidi.

Dalle semine su agar-semplice, dopo incubazione di 24 ore in termostato, si sviluppavano solo poche colonie del tutto simili a quelle dei ceppi tifici normali in fase S. Solo dopo attenta osservazione della superficie della piastra d'agar con opportuna incidenza di luce, era possibile scorgere un seminato di numerose, piccolissime colonie ai limiti della visibilità, quali nelle semine di un comune ceppo tifico si possono scorgere solo in 3^a-6^a ora di crescita.

Osservata al microscopio la superficie della piastra appariva disseminata di numerose coloniette in vario stadio di sviluppo, talune già formate,

altre ridotte ad un piccolo gruppo di batteri, altre infine costituite da sottili filamenti, formati da pochi germi. Tutte queste coloniette avevano una forma longitudinalmente allungata; la superficie appariva di struttura filamentosa. Lasciandole ulteriormente in termostato, un numero considerevole di coloniette si sviluppava raggiungendo tra la 40^a e la 48^a ora le dimensioni di una normale colonia, altre invece restavano allo stato di crescita iniziale, non essendo capaci di ulteriore sviluppo.

Seguendo al microscopio di ora in ora il progredire della crescita si notava che molte delle forme rudimentali venivano conglobate nella massa delle colonie vicine cresciute più abbondantemente e confluenti. Nelle semine di sospensioni contenenti circa 500 milioni di germi per cc. si giungeva in 48^a ora alla formazione di una patina, sulla quale risaltavano le grosse colonie a sviluppo normale, che chiameremo macrocolonie che apparivano più rilevate in superficie, e viste in trasparenza, più opache della restante patina. Questa non era mai continua ma presentava qua e là delle lacune, le quali, osservate al microscopio, apparivano come zone di agar, occupate da poche microcolonie rimaste allo stadio inicialissimo di semplici filamenti. Queste forme, soggette ad una inibizione dell'accrescimento così spiccata, non erano più capaci di ulteriore evoluzione anche lasciando per parecchi giorni in termostato le piastre di agar.

Le semine eseguite su agar-sangue mostravano invece uno sviluppo regolare, rapido del germe, avendosi soltanto nelle prime 15-16 ore una certa diversità nella grandezza delle colonie, che ricordava la suddescritta dissociazione in macro- e microcolonie delle semine su agar-semple.

Una volta stabilita la esistenza nelle semine su agar-semple dei due tipi di colonie sopradescritti, li studiammo anzitutto allo scopo di stabilire la diagnosi di fase.

Potemmo così accertare che entrambi i tipi di colonie davano sospensioni perfettamente omogenee, stabili in soluzione di NaCl al 0,85 % e non venivano agglutinati dalla triplafavina in soluzione all'1 %. Quanto all'aspetto delle colonie esso era quello caratteristico delle colonie in fase S-R, colonie a margherita, con una parte centrale convessa, liscia, lucida ed un alone di crescita periferica d'aspetto rugoso, a margini frastagliati.

Le subculture dai due tipi di colonie ripetute in serie nel corso di due anni, hanno costantemente dimostrato che dalle macrocolonie si ottengono esclusivamente ceppi filici del tutto normali, dalle microcolonie si generavano invece macro e microcolonie. Le macrocolonie sono nella proporzione di circa il 3-4 % rispetto alle microcolonie.

Questa capacità delle microcolonie a dissociare in macro e microcolonie si è dimostrata costante durante i due anni di osservazione, stabile

rimanendo anche il rapporto percentuale dei due tipi di colonie, purché le semine venissero fatte da terreni all'agar-sangue o all'uovo secondo KAUFMANN. I trapianti successivi su piastre di agar semplice dimostravano invece una progressiva diminuzione del fenomeno dissociativo in macro e micro colonie fino ad aversi dopo una diecina di passaggi su agar-semplice degli stipiti tifici che crescevano normalmente su tutti i terreni. Così pure un'azione poco favorevole al mantenimento e alla manifestazione del fenomeno era esercitata dai terreni liquidi (brodo semplice e glucosato). Ritengo che ciò sia dovuto al prevalere delle forme tifiche delle macrocolonie con sviluppo rigoglioso, normale, per cui nei successivi passaggi facendo i prelevamenti da patine e non da singole colonie si aveva un arricchimento dei germi normali nei confronti di quelli inibiti.

Usando agar preparati con carni di animali di specie diversa (bue, cavallo, coniglio) o semplicemente con carni di animali diversi nell'ambito della stessa specie, fu possibile notare che quegli agar i quali maggiormente favorivano la crescita dei germi anche normali maggiormente ostacolavano l'appalesarsi del fenomeno di inibizione moltiplicativa delle microcolonie.

In appoggio a questo modo di vedere condussi delle esperienze usando dell'agar al Cu. SO_4 , secondo la tecnica usata da MAGRASSI e SCALFI [2-3] per lo studio del fattore di crescita dello stafilococco. Su questo agar, il quale, stando alle ricerche di MAGRASSI per lo stafilococco si dimostra impoverito di fattore di crescita, lo sviluppo del tifo era altamente dissociato in macro- e microcolonie.

La visibilità macroscopica di queste ultime si aveva soltanto dopo la 24^a ora di incubazione a 37°C.

Per terminare questa rassegna del comportamento dei miei due ceppi su vari terreni solidi, ricorderò ancora che il fenomeno della inibizione alla crescita si verificava anche sul terreno di Endo.

L'iposolfito di sodio non ostacolava pertanto il manifestarsi della dissociazione in macro e microcolonie.

Sviluppo normale o pochissimo modificato si è ottenuto costantemente su agar-sangue, agar-siero, agar-ascite e piastre di terreno all'uovo di KAUFFMANN. Su agar semplice a pH. diverso dall'ottimale (7,2) tanto i ceppi tifici normali quanto i miei due ceppi hanno una crescita così sten-tata che non si possono riconoscere in tali condizioni differenze evidenti tra i ceppi normali e i ceppi modificati.

Non fu possibile dimostrare in questi ceppi l'influenza di metaboliti batterici sullo sviluppo delle microcolonie, a differenza di ciò che aveva osservato MAGRASSI per gli stafilococchi modificati.

Volli esaminare anche le eventuali modificazioni, che si verificavano nelle caratteristiche biologiche, dei due ceppi, mediante il passaggio in animale. Questo studio mi permise di verificare incidentalmente anche il potere patogeno dei ceppi.

Cinque conigli del peso di circa 2 Kg. inoculati per via intradermica con la patina di 24 ore di un tubo d'uovo, sospesa in cc. uno di Sol. Fisiologica (contenente circa 10 miliardi di germi) vennero a morte tra il 6° e il 14° giorno dalla inoculazione.

Dall'infiltrato cutaneo, dal sangue e due volte dall'essudato peritoneale, fu possibile isolare dei ceppi tifici, i quali si dimostrarono in tutti i casi notevolissimamente modificati.

Altri cinque conigli sottoposti ad analogo trattamento invece sopravvissero. Anche da questi animali si ottennero ceppi fortemente dissociati. In tutti i conigli comparvero agglutinine a tassi elevatissimi (oltre 1.12600).

Studiati dal punto di vista della costituzione antigenica, i due ceppi apparvero forniti di tutti e tre gli antigeni O-II-Vi.

Se si confrontano i dati che sono venuto esponendo con quelli risultanti dai lavori di MAGRASSI sul fenomeno batteriostatico dello stafilococco, sono chiaramente visibili alcune somiglianze nel comportamento degli stafilococchi modificati e dei miei due ceppi tifici.

Tali sono le proprietà di dissociare in macro e microcolonie e la sensibilità alla diversa composizione dei vari terreni solidi.

Esistono però anche notevoli divergenze; mi limito ad enumerare le principali. Il comportamento sui terreni liquidi, l'influenza dei metaboliti batterici e soprattutto la notevole differenza di comportamento delle macrocolonie stafilocociche in confronto a quelle tifiche. Mentre dalle prime si originano sempre macro e microcolonie, vale a dire esse sono capaci di dare generazioni di germi sempre dissocianti, le macrocolonie tifiche danno luogo invece a ceppi stabili, normali.

Nonostante queste divergenze, date le affinità di comportamento sopra elencate e la concomitante presenza nei due malati di ceppi tifici dissocianti accanto a stafilococchi modificati, era naturale che si prendesse in considerazione, tra le varie ipotesi formulate allo scopo di interpretare il fenomeno dissociativo dei miei due ceppi tifici, anche quella della eventuale esistenza ed azione su di essi di un fattore a tipo batteriostatico nel senso di MAGRASSI.

Infatti analizzando i dati da me osservati e confrontandoli con le nozioni, che si possono desumere dalla letteratura, due possibilità interpretative mi sembra logico prospettare.

Le caratteristiche biologiche dei due ceppi tifici possono essere fatte rientrare nell'ambito dei fenomeni di variabilità batterica spontanea da cause interne, oppure si deve pensare che esse siano ascrivibili ad un fenomeno di variazione provocata, da cause esterne.

Nella prima eventualità si dovrebbe ritenere che i fenomeni da me osservati, rientrano nella serie delle possibilità evolutive innate della specie batterica. Si tratterebbe in altre parole di una tendenza evolutiva insita nella specie, ma rimasta allo stato latente, che, ad un dato momento, forse col concorso di condizioni particolari di ambiente, a noi ignote, si è resa manifesta.

Una tale interpretazione è accettata da molti AA. che si sono occupati dei fenomeni della variabilità batterica per molte anomalie di crescita osservate in numerose specie batteriche.

Uno dei fenomeni più studiati e noti, in questo campo, è quello delle variazioni del *B. coli mutabile* di NEISSER e MASSINI.

In analogia con la denominazione data a questo ceppo di *coli*, nel 1910 JACOBSEN [4] descriveva un particolare ceppo tifico, chiamandolo *B. typhi mutabile*. Tra le tante forme anomale di tifo, che si trovano descritte nella letteratura mondiale questi ceppi tifici di JACOBSEN mi sembra che presentassero delle caratteristiche biologiche molto simili a quelle dei miei due ceppi.

Indiscutibile è per lo meno la identità di comportamento su agar semplice, poichè la dissociazione in macro e microcolonie descritta da JACOBSEN, corrisponde molto bene a quanto io stesso ho osservato. Diversità di comportamento hanno però i miei ceppi nei riguardi dell'iposolfito sodico, il quale agiva sul *B. typhi mutabile* inibendone la dissociazione, tantochè su terreno di Endo quel ceppo cresceva normalmente, cosa che non ho potuto mai osservare nei miei due ceppi.

Batteri analoghi a quelli da me studiati sono pure stati descritti da KAUFFMANN [5], il quale li denomina « Zwergformen » (forme nane) riconducendoli al *B. typhi mutabile* di JACOBSEN.

Alcuni ceppi dissocianti in macro e microcolonie vengono anche descritti da RAPOPORT e FISCHER [6]; anche questi AA. interpretano i ceppi da loro descritti come dello stesso tipo del *B. tifico* di JACOBSEN.

Un altro caso di infezione tifoidea sostenuta dal *B. tifico mutabile* è stato più recentemente descritto da K. KUBOTA [7].

Lasciando da parte gli altri tipi di colonie tifiche con caratteri speciali, che troviamo descritte nella letteratura (microcolonie di HADLEY [8], colonie fantasma o ombra di SOULE [9], microcolonie di ZAPATERO [10]) le quali evidentemente non hanno nessun punto di contatto e nessunissima analogia con le microcolonie dei miei due ceppi tifici, resta da esami-

nare l'altra ipotesi interpretativa da me formulata. Siamo in presenza nel nostro caso di germi modificati da un fattore di natura batteriostatica, quale MAGRASSI ha descritto per lo stafilococco? I fatti che rendevano suggestiva questa ipotesi sono già stati esposti più sopra.

Per poter risolvere il quesito bisognava affrontare lo studio sperimentale del problema.

Si trattava di poter dimostrare per i miei ceppi tifici un comportamento analogo a quello messo in luce da MAGRASSI per gli stafilococchi.

Questo A. ha potuto dimostrare sperimentalmente che il fattore avente azione batteriostatica non è legato esclusivamente allo stafilococco, ma può da questo dissociarsi ed essere trasmesso e mantenuto nei tessuti di un organismo animale. Questi tessuti possono a loro volta cederlo a stafilococchi normali, che in tal modo vengono modificati, acquistando così la proprietà di presentare il fenomeno batteriostatico.

Analogamente per i miei ceppi tifici si sarebbe potuta ritenere probabile la esistenza di un batteriostato tifico qualora fosse riuscita la trasmissione delle caratteristiche biologiche osservate nei miei due ceppi, da questi ad un ceppo tifico normale od anche, per una via indiretta, se si fosse riusciti a modificare degli stafilococchi normali per mezzo dei ceppi tifici.

I presupposti per la riuscita di un tal genere di esperimento erano essenzialmente i seguenti:

Anzitutto la reale esistenza di un elemento di tipo batteriostatico anche per il tifo, in secondo luogo la capacità da parte del tifo dissociante di codere il batteriostato e in terzo luogo l'attitudine da parte del germe normale di legarsi ad esso e di risentirne l'azione manifestando il fenomeno batteriostatico; infine la possibilità di modificare gli stafilococchi mediante germi di specie diversa quali sono i tifi. Perché questa ultima eventualità si realizzasse era necessario che il batteriostato non avesse una sua individualità di legame alle singole specie microbiche, ma fosse invece dotato di una polivalenza di attacco per cui potesse unirsi indifferentemente a germi di specie diverse.

Ciò era reso probabile da tre ordini di fatti:

1° la constatazione di MAGRASSI che gli streptococchi viridanti e così pure un enterococco isolati da malati di endocardite lenta si erano dimostrati portatori di batteriostato;

2° la constatata contemporanea presenza nei miei due casi di stafilococchi modificati accanto ai tifi anomali su descritti;

3° il reperto, avutosi in un'esperienza di MAGRASSI, il quale poté isolare dal testicolo di un coniglio inoculato con materiale ricco di bat-

terioistato a provenienza stafilococcica un ceppo di *B. coli*, che dimostrava un comportamento del tutto simile ai miei due ceppi tifici, dissociando in macro e microcolonie su agar semplice dove l'inibizione alla crescita si manteneva evidente anche dopo 24-48 ore di termostato crescendo invece normalmente su agar sangue.

Debbo dire che lo studio su questa via è appena agli inizi ed i risultati delle esperienze da me condotte non sono ancora tali da giustificare precise, sicure deduzioni.

Li riferisco sinteticamente.

Per ora ho compiuto tentativi di trasmissione del batteriostato dal tifo allo stafilococco. Le esperienze sono state condotte nel coniglio.

Ho seguito la tecnica adottata da MAGRASSI nelle sue esperienze di trasmissione del batteriostato agli stafilococchi. Ad un coniglio inoculavo per via intradermica uno dei ceppi tifici anomali e successivamente (in media dopo 5-7 giorni) una sospensione di stafilococchi sicuramente normali appartenenti ad un ceppo già studiato da MAGRASSI e dimostrato modificabile dal batteriostato stafilococcico. Dopo 5-7 giorni si prelevava il pus dall'ascesso stafilococcico formatosi e si studiavano gli stafilococchi da esso ricavati.

Da otto conigli in tal guisa trattati ho ricavato un complesso di 340 ceppi di stafilococco tutti normali.

Da altri tre conigli invece ho potuto ottenere su 64 ceppi studiati 9 ceppi sicuramente modificati.

Le esperienze di controllo eseguite da MAGRASSI escludono in maniera categorica che lo stafilococco da me usato sia suscettibile di spontanea modificazione nei passaggi in animale. Si potrebbe però pensare che la modificazione dello stafilococco possa verificarsi in seguito al soggiorno in tessuti di animali pretrattati con ceppi tifici anche normali.

Furono perciò istituite esperienze di controllo eseguendo il pretrattamento dell'animale con tifi normali. I risultati sono stati completamente negativi: nessun ceppo stafilococcico è apparso modificato.

Debbo dire però che il numero di questi controlli è ancora troppo esiguo perchè si possa ad essi attribuire un valore assoluto.

Riassumendo i dati di questo primo gruppo di ricerche, possiamo dunque constatare che si è avuta una positività, la quale però è assai scarsa, specie se si confronta con le cifre ottenute da MAGRASSI nelle sue esperienze di trasmissione del batteriostato agli stafilococchi.

Questi dati positivi hanno però una importanza non del tutto trascurabile, la quale potrà divenire tanto maggiore quanto più estese saranno le esperienze di controllo.

Io credo pertanto che i risultati sopra esposti pur non permettendo di giungere ad una conclusione definitiva, possano costituire un punto di partenza per ulteriori ricerche.

La concomitante esistenza di ceppi stafilococcici modificati negli stessi organismi, che ospitavano i tifi anomali da me descritti, la dimostrazione di un fenomeno di inibizione moltiplicativa simile a quello batteriostatico osservato negli stafilococchi, non solo nei tifi ma anche nel ceppo di *coli* isolato da un coniglio portatore di batteriostato stafilococcico ed infine la positività sia pure scarsa di queste prove sperimentali da me riferite, rendono sempre più suggestiva l'ipotesi e fondato il sospetto che anche per i germi del gruppo tifo-coli vi sia la possibilità di una inibizione moltiplicativa dovuta alla influenza di un elemento trasmissibile ad attività batteriostatica quale MAGRASSI ha dimostrato per gli stafilococchi.

Se così fosse verrebbe ad essere notevolmente allargato il campo di ricerca, aperto felicemente da MAGRASSI, e veramente ci troveremmo di fronte a nuove insospettate prospettive a noi dischiuse da un complesso di fenomeni il cui studio si dimostra capace di ampliare le attuali nostre concezioni sulla biologia dei batteri e fors'anche sulla eziopatogenesi di talune malattie (endocardite lenta e sepsi lente in genere).

Se poi la ipotesi di lavoro, che mi ha guidato in queste ricerche, non troverà suffragio e conferma nelle ulteriori esperienze, resterà pur sempre alle ricerche condotte in questo campo il valore di un tentativo di battere nuove vie e di prendere in esame nuove possibilità interpretative nel campo molto studiato, ma sotto certi aspetti fermo ad un punto morto, della variabilità batterica.

RIASSUNTO. — Vengono illustrati due casi di infezione tifoidea caratterizzati da notevoli anomalie del quadro clinico e sostenuti da due ceppi di bacillo tifico dotati di particolari caratteristiche biologiche. Queste consistono essenzialmente in una profonda limitazione dell'attività moltiplicativa del germe, seminato su determinati terreni solidi di cultura.

Viene descritto ed analizzato nei suoi fattori causali questo fenomeno di inibizione moltiplicativa.

Viene prospettata e discussa la possibilità che esso rientri nel quadro più generale del « fenomeno batteriostatico » descritto da MAGRASSI per gli stafilococchi.

AUTORI CITATI

- [1] MAGRASSI, « Boll. e Atti R. Accad. Med. di Roma », 66, 146, 1940.
- [2] MAGRASSI e SCALFI, « Boll. e Atti R. Accad. Med. di Roma », 67, 115, 1941.
- [3] SCALFI, Nota I « Boll. Ist. Sier. Mil. », 21, 67, 1942; Nota II in corso di stampa su « Boll. Ist. Sier. Mil. », 21, 1942.
- [4] JACOBSEN, « Zentr. f. Bakt. O. », 66, 208, 1910.
- [5] KAUFFMANN, « Ztschr. f. Hyg. », 116, 617, 1935.
- [6] RAPOPORT e FISCHER, « Arch. Biol. Nauk. », 35, 3, 1934.
- [7] KUBOTA, « Taiwan Igakkai Zassi », 39, 972, 1940.
- [8] HADLEY, « J. Infect. Dis. », 40, 1, 1926.
- [9] SOULE, « Atti del IV Congr. Naz. di Microbiol. », 236, 1932.
- [10] ZAPATERO, « Ann. Ig. », 44, 609, 1934.

17013



