

CONFERENZE E SEMINARI

Le rôle de la chimiothérapie initiale dans les programmes de lutte antituberculeuse (*)

CONSTANTIN ANASTASATU

Clinique de Phtisiologie, Bucarest, Roumanie

Permettez-moi, avant toute chose, en ma qualité de président de la Société roumaine de phtisiologie et de pneumologie, de transmettre aux phtisiologues et aux pneumologues italiens et à tous ceux qui s'intéressent à la lutte contre la tuberculose le message de l'amitié et le désir de collaboration de la part des phtisiologues et des pneumologues roumains. Pour nous, pneumophtisiologues roumains, l'Italie est connue non seulement comme la patrie de Forlanini, Morelli, et d'autres, qui sont entrés déjà, chargés de gloire, dans l'histoire de la phtisiologie mondiale, mais aussi comme le pays qui garde, de nos jours, une place universellement reconnue à l'avant-garde de la lutte antituberculeuse et de la recherche scientifique dans le domaine de la tuberculose.

Voilà, d'ailleurs, la principale raison pour laquelle il est extrêmement difficile pour un phtisiologue de n'importe quel pays de trouver et de traiter devant ses collègues italiens un sujet de conférence sur la tuberculose, qui soit capable de satisfaire les attentes d'un auditoire tellement exigeant. C'est pourquoi, en nous proposant de faire un exposé sur le rôle du traitement initial dans les programmes de lutte antituberculeuse, nous ne comptons pas tant apporter des contributions inédites à ce problème, mais plutôt réaliser un échange d'expérience sur la conception de nos phtisiologues et sur les résultats obtenus dans notre pays par la chimiothérapie initiale, méthode que nous envisageons moins du point de vue thérapeutique que du point de vue prophylactique, comme une action de grande envergure, qui doit jouer un rôle bien défini dans la lutte contre la tuberculose.

En ce qui nous concerne nous considérons que les échanges d'expérience de ce genre sont devenus de nos jours d'autant plus utiles que le problème de la tuberculose est lui-même un problème qui dépasse les frontières des nations et qui entraîne de plus en plus dans sa solution les forces médicales et non médicales de tous les pays, comme un des plus importants, et des plus complexes aussi, de la santé mondiale.

(*) Conferenza tenuta nell'Istituto Superiore di Sanità l'11 ottobre 1965.

Comme il a été remarqué en maintes occasions, il est, sinon curieux, du moins regrettable de constater que, quoique les tuberculostatiques soient utilisés depuis 20 ans, c'est à peine dans ces dernières années que le monde commence à se convaincre de la valeur de leur application, pas comme méthode thérapeutique, parce que celle-ci est acceptée depuis longtemps, mais comme *méthode thérapeutique-prophylactique de routine* qu'on doit inscrire comme telle dans les programmes de lutte antituberculeuse. On pourrait dire que, même à l'heure actuelle, le rôle de cette méthode, dans l'ensemble des autres méthodes plus ou moins classiques et dans les programmes de lutte antituberculeuse dans différents pays, est encore bien loin d'être précisé.

Mais avant d'entrer dans la discussion de ce problème, il nous semble opportun de faire mention tout à fait brièvement de quelques détails de la *technique* actuelle et de quelques particularités, disons locales, de la chimiothérapie initiale.

La chimiothérapie initiale. — La méthode s'adresse — on le sait bien — aux formes de tuberculose pulmonaire secondaire de l'adulte : — des formes limitées ou modérément avancées, mais récemment dépistées — à ces formes « di primo accertamento » dont débute la carrière des malades tuberculeux, et qui n'ont été soumises à aucun traitement auparavant. Il ne s'agit donc pas de la chimioprophylaxie, qui s'adresse à des individus sains et dont je n'aurais pas eu le courage de venir parler dans le pays même qui par M. le Prof. Omodei-Zorini en fut le promoteur, mais du *traitement d'attaque* des formes non encore traitées et que nous désignons par le nom de *traitement initial*.

On est tombé à présent d'accord que le traitement initial correctement conduit de ces formes-là est capable d'en apporter la *stérilisation* — dirai-je même la *guérison* — dans plus de 90 % des cas. Il suffit à ce point de rappeler les résultats publiés à partir de 1960 par Crofton, Vidal, Smelev, Brouet, Et. Bernard, par — ici en Italie — Omodei-Zorini, Fegiz, Nitti, ou — en Roumanie — par Daniello, par nous - même et par d'autres, et surtout l'*expérience internationale* relatée en 1963, par un comité de l'UICT, lors de la XVII^{ème} Conférence internationale de Rome, qui, tous, notifient, après 6 mois de traitement, même dans les formes cavitaires relativement avancées, la stérilisation des crachats en des proportions variables de 90-98 %. On serait tenté de dire qu'en de telles conditions le problème de la tuberculose pourrait être considéré comme virtuellement résolu, et plusieurs se sont pressés de le faire, s'il n'y avait encore, quant à l'application proprement dite de la méthode, de nombreuses difficultés.

Au point de vue de la *technique* du traitement initial une première question, tranchée en apparence, persiste quand même, à savoir : quel est le schéma tuberculostatique le plus efficace et en même temps le plus à la portée

de tous les pays ; autrement dit, doit-on faire des traitements initiaux à trois tuberculostatiques ou à deux tuberculostatiques ? doit-on renoncer partout et pour toujours à la monothérapie ? doit-on utiliser seulement les tuberculostatiques classiques ou peut-on envisager encore des traitements initiaux ou d'attaque avec des tuberculostatiques de relais ?

Bien sûr il n'est pas possible, et non plus nécessaire, de passer en revue les différentes réponses qu'on a donné, dans la littérature, à ces questions. Le point faible commun de ces réponses-là c'est qu'elles se fondent presque exclusivement sur une posologie un peu vieillie (on sait comme les choses vieillissent rapidement en matière de chimiothérapie), selon laquelle on donnait l'INH à 300 mg par jour, la Streptomycine deux fois par semaine, le PAS en 3 ou 4 prises par jour.

C'est pour cette raison que nous nous permettons de signaler une enquête spéciale que nous avons entreprise dans notre clinique de Bucarest (avec nos collaborateurs S. Kaufman, O. Bercea et d'autres) sur la valeur comparative des schémas triples et doubles comme *schémas d'attaque* ou de traitement initial. Nos résultats se rapportent à deux groupes de malades : *un groupe A* (156 cas) traité avec un schéma triple : hydrazide de l'acide isonicotinique (INH) 10 mg/kilo corp, Streptomycine (SM) 1 g par jour et pour une seule piqûre et acide para amino salicylique (PAS) 12 g en perfusions intraveineuses ou *per os* en prise unique ; *un groupe B* (88 cas) traité avec un schéma double INH 10 mg/kilo corp et SM 1 g par jour.

Il s'agit des cas de différentes formes de tuberculose secondaire et de différentes situations quant à l'âge, le sexe, le mode de dépistage, etc., mais dont la distribution dans les deux groupes A et B était pratiquement équivalente.

Les résultats ont été évalués après 6 mois de traitement selon les critères auxquels on accorde à présent le plus grand crédit : en premier lieu le critère bactériologique (au moins trois cultures négatives) ; en second lieu le critère radiologique, qu'on est souvent enclin à sous-estimer, mais auquel nous continuons d'accorder toute attention.

Après 6 mois on a donc constaté dans les deux groupes A et B les résultats figurés dans le Tableau 1.

Quoique-il semble que les résultats furent plus favorables dans le groupe A, à trois tuberculostatiques, que dans le groupe B, à deux tuberculostatiques, les tests statistico-mathématiques ne nous donnèrent pas le droit de tirer cette conclusion, la différence entre les résultats favorables dans les deux groupes de malades A et B n'étant pas significative.

En revanche nous nous sommes considérés autorisés à conclure que les résultats obtenus par le schéma double sont pratiquement comparables à ceux obtenus par le schéma triple, et qu'en conséquence on peut effectuer des traitements initiaux systématiques avec deux tuberculostatiques (y compris l'INH) sans préjudice aucun pour les malades et avec, en même temps,

des avantages économiques qui ne sont pas à négliger. On a pris l'habitude de souligner ces avantages parce que, pour la majorité des pays du globe, et particulièrement pour les pays afroasiatiques en cours de développement, le problème de l'économicité dans la lutte antituberculeuse constitue une préoccupation centrale.

TABLEAU I.

Les résultats du traitement initial de la tuberculose (après 6 mois).

Résultats	Groupe A		Groupe B	
	n° des cas	%	n° des cas	%
Négativation (stérilisation) des crachats, respectivement des lésions pulmonaires .	144	92,2 *	75	85,4
Effacement ou cicratisation des infiltrats et fermeture radiologique des cavernes . .	83	53,2	34	38,6
Effacements partiel des infiltrats et diminution, sans fermeture des cavernes . .	61	39,0	41	46,8
Des cas plus ou moins stationnaires, à bacilloscopie intermittente positive . .	12	7,8	13	64,6

* dont 80 % dans les premiers trois mois.

A Munich même on vient de discuter il y a quelques jours de « ce que coûte la tuberculose dans différents pays ». Eh bien, quant à notre sujet, alors que, pour 100 malades, le traitement initial à 2 tuberculostatiques — INH et PAS — coûte environ 120.000 lei pour 6 mois, à peu près 2 millions de liras italiennes, le traitement à trois tuberculostatiques (+ SM) coûte environ 250.000 lei ou plus de 4 millions de liras italiennes, c'est-à-dire au moins 100 % de plus. S'il s'agit de dizaines de milliers de malades, comme c'est le cas de l'Inde par exemple, les différences montent elles aussi à des dizaines de millions de lei.

Les traitements initiaux à deux tuberculostatiques (dont l'un l'INH) apparaissent comme justifiés d'autant plus qu'après 12 mois de traitement, comme nous avons eu l'occasion de l'observer dans nos cas mêmes, la différence des résultats entre les groupes traités par trois et ceux traités par deux tuberculostatiques, s'efface de telle manière que les bilans des traitements triples ne se distinguent plus de ceux des traitements doubles, que, si vous voulez, par une augmentation des manifestations toxiques.

Certainement, à toute règle — et par surcroît aux règles thérapeutiques — il y a des exceptions dont, en pratique courante, il nous faut tenir compte,

parce que ces exceptions représentent des malades elles aussi, qui ont le même droit de guérir que tous les autres.

Le traitement des formes à germes primorésistants. — Nous voilà arrivés, de cette façon, à un autre aspect technique du traitement initial, aspect qui se rapporte aux *schémas thérapeutiques des tuberculoses à germes résistants*, aux tuberculostatiques classiques. Il y a peu d'années on n'en eût pas fait un problème, mais maintenant, lorsque la fréquence des germes à résistance primaire à l'INH, à la SM et au PAS atteint dans quelques pays (en USA, en Afrique, etc.) des proportions de 20-25 %, des corrections dans la conduite thérapeutique s'imposent.

L'expérience qui fut apportée à ce sujet par les études récentes de Morel, Et. Bernard, Mayer, Canetti, Barbu, fait état d'une constatation extrêmement importante, à savoir que le pronostic des formes à résistance primaire est beaucoup moins défavorable que le pronostic des formes à résistance secondaire. Tandis que les germes qui se développent chez les malades longtemps traités par des tuberculostatiques, sont l'expression d'un échec du traitement et de la capacité de défense de l'organisme, les germes primorésistants, qui ne sont pas encore venus en contact avec les tuberculostatiques dans les conditions de milieu de l'organisme humain, ont beaucoup plus de chances (soi-disant parce que les chances appartiennent aux malades) d'en être influencés. Quand même on n'est pas moins obligé de reconnaître que les cas des malades à germes résistants envers l'INH et particulièrement des ceux à germes bi-résistants envers l'INH et la SM sont bien plus difficiles à résoudre.

Dans les régions où il y a des résistances primaires à haute fréquence ou dans les cas individuels où on soupçonne une infection à germes primorésistants, il est donc pleinement justifié que le traitement initial soit commencé par un schéma à trois tuberculostatiques et même qu'on y ajoute, d'emblée, un tuberculostatique supplémentaire. Il va sans dire que dès qu'on est en possession de l'antibiogramme on devra régler le schéma thérapeutique en conséquence.

La résistance primaire constitue une des raisons pour lesquelles des auteurs comme Et. Bernard, Kreis, Kalb, Chicou, Rist, et d'autres viennent tout récemment de proposer que les traitements initiaux soient effectués *non* avec des tuberculostatiques classiques, mais avec des tuberculostatiques de relais, comme l'éthionamide (ETM), la cyclosérine (CS), la pyrazinamide, la kanamicine, etc. Ceux-ci auraient la qualité d'offrir — selon l'avis des auteurs cités — au moins *trois avantages* vis à vis de l'INH, de la SM et du PAS : *premier* avantage ils peuvent couvrir plus efficacement les cas à résistance envers l'INH et la SM ; *deuxième* avantage : la résistance envers eux-mêmes s'installe plus lentement que la résistance envers l'INH ou la SM, ce qui rend plus raisonnable de les mettre en première ligne de bataille (tout

en gardant, en même temps, pour la phase de consolidation du traitement, les tuberculostatiques les plus forts); *troisième* avantage: il semble plus logique que le traitement d'attaque, qui se déroule à l'hôpital, soit effectué par des tuberculostatiques plus difficiles à administrer, et qui demandent plus de surveillance médicale, et que les tuberculostatiques classiques, qui sont les plus maniables, soient réservés pour la phase ambulatoire. Nous n'avons que peu d'expérience personnelle sur le traitement initial à tuberculostatiques de relais et nous ne pouvons ni soutenir ni réfuter les arguments énoncés. Nous nous permettons, quand même, de remarquer que même si à l'avenir on pourra renoncer, dans les schémas initiaux, à la SM ou au PAS, qui peuvent être assez convenablement remplacés par l'éthionamide, nous ne voyons aucune raison pour qu'on renonce à l'INH, qui constitue le pilon central des traitements tuberculostatiques et qu'on recommande de nos jours à maintenir dans les schémas thérapeutiques même en cas d'INH-résistance.

La chimiothérapie à schémas changeants. — S'il s'agit de faire des objections aux schémas classiques du traitement initial et d'y proposer des innovations, il est établi que *deux* en sont les inconvénients principaux: premièrement, qu'ils n'évitent pas entièrement le développement des souches résistantes, d'où la grande majorité des échecs thérapeutiques; deuxièmement, qu'ils donnent encore des phénomènes secondaires assez souvent désagréables. Pour remédier à ces deux inconvénients nous sommes en train d'expérimenter un nouveau schéma thérapeutique, qu'on pourrait nommer *changeant* ou *cyclique*, basé sur l'administration continue de l'INH avec le changement mensuel et cyclique (tous les quatre mois) du deuxième tuberculostatique comme il suit:

premier mois : INH 10 mg/kg + PAS 12 g

deuxième mois : INH 10 mg/kg + ETM 1 g

troisième mois : INH 10 mg/kg + SM 1 g

quatrième mois : INH 10 mg/kg + CS 1 g

cinquième mois : on reprend les mêmes schémas du commencement pour un nouveau cycle de 4 mois.

Ce nouveau schéma est fondé sur deux principes déjà expérimentés *in vitro* et *in vivo* (Semenov) et que nous ne pouvons qu'énoncer, à savoir:

1° le changement mensuel des tuberculostatiques inhibe le développement des germes résistants; 2° puisque la plupart des manifestations secondaires se produisent après 2-3 mois d'administration d'un même tuberculostatique, le changement mensuel de celui-ci mène à une forte diminution, sinon à la disparition de tout phénomène indésirable.

En effet les données provisoires de notre expérimentation qui se rapportent jusqu'ici à plus de 100 malades, montrent qu'en général les schémas

changeants sont mieux tolérés que les schémas classiques et que les cas de résistance secondaire ne surviennent qu'à titre d'exceptions. C'est seulement la cyclosérine qui donne encore des troubles psychiques évidents et qu'on devrait substituer à l'avenir par un autre tuberculostatique de relais, par exemple par l'isoxyl.

Les schémas changeants sont extrêmement bien reçus par les malades pour la raison *psychologique* qu'ils leur offrent, toute petite qu'elle soit, un peu de variation au cours d'un traitement en soi et par soi-même assez monotone.

Nos résultats cliniques nous ont encouragés à expérimenter les schémas changeants aussi au cours des traitements initiaux ambulatoires, surtout les schémas altérants mensuels : INH + SM alternés avec INH + ETM. C'est ce que font également Mordasini, qui recommande qu'on change de temps en temps les combinaisons tuberculostatiques, de même que Tunner et collab. qui en faisant « basculer » tous les deux mois le schéma thérapeutique (*Schaukeltherapie*) visent à remédier aux mêmes deux inconvénients ci-dessus mentionnés.

Quant à nous mêmes, nous sommes convaincus que les adeptes des schémas changeants seront à l'avenir de plus en plus nombreux et que les malades soumis au traitement initial selon ces schémas n'en auront qu'à profiter.

Permettez-moi dans ce qui suit de faire une brève mention de deux autres questions qui se rapportent également à la technique du traitement initial, et sur lesquelles *gramatici certant*.

La signification clinique de l'inactivation de l'Isoniazide. — Une première question : est-ce que le phénomène de l'inactivation rapide de l'INH a, ou n'a pas de l'influence sur l'efficacité du traitement initial ?

Tout en considérant connues les données assez contradictoires de la littérature, nous nous bornerons à présenter brièvement l'expérience de notre clinique et à en tirer la conclusion. Il s'agit d'un nombre de 152 malades où nous avons déterminé, avant le traitement initial, le degré d'inactivation de l'INH par la méthode des dilutions, en étiquetant comme *inactivateurs rapides* les sujets qui, 6 heures après 1/3 de la dose de l'INH de 10 mg/kg, présentaient une concentration sérique au dessous de 0,5 µg/ml ; comme *inactivateurs modérés* ceux avec des niveaux entre 0,5-1 µg/ml et comme *inactivateurs lents* ou à métabolisme normal de l'INH ceux dont le niveau sanguin dépassait 1 µg/ml.

A la fin du traitement (6 mois) le pourcentage des résultats favorables a été à peu près le même pour les inactivateurs rapides et modérés d'une part (97,9 %, 48 cas) et pour les inactivateurs lents d'autre part (99 %, 104 cas).

On n'a pas noté de différences sensibles non plus entre les résultats obtenus sur les différents types d'inactivateurs traités par *deux* ou par *trois* tuberculostatiques.

Quant à la rapidité de la guérison, il y a eu par contre une différence significative entre, d'une part, les inactivateurs lents traités par trois tuberculostatiques, dont le pourcentage des négativations précoces (2-3 mois) et des disparitions des cavernes a été de 70 %, et d'autre part les inactivateurs rapides (traités par le même schéma triple), dont le pourcentage respectif n'a atteint que 37 %.

Nos données semblent donc montrer que tandis que le pourcentage final des résultats thérapeutiques n'est pas influencé par le degré d'inactivation de l'INH, la rapidité du processus de guérison est plus évident chez les inactivateurs lents que chez les inactivateurs rapides. Il faut pourtant faire attention que cette remarque-là n'est pas valable pour tout schéma thérapeutique, mais seulement *pour le schéma triple classique* à INH + SM + PAS. Les choses se passent comme si l'action compétitive du PAS dans le processus d'acétylation de l'INH n'avait d'efficacité qu'en cas de métabolisme normal de ce dernier, fait qui contribuerait à réaliser un niveau plus haut de l'INH sanguin, et qui pourrait expliquer, chez les inactivateurs lents, le rythme plus accéléré de la guérison. Ces cas devraient constituer en conséquence une deuxième indication spéciale pour un schéma thérapeutique initial à trois tuberculostatiques.

La corticothérapie initiale. — La deuxième question dont nous parlions tout à l'heure se réfère à la corticothérapie : est-ce que *la corticothérapie initiale associée* (avec ACTH ou avec des corticostéroïdes) est ou n'est pas capable d'augmenter le pourcentage des guérisons, et *doit-elle* ou non entrer dans la routine ?

Nous allons faire appel de nouveau à nos propres données, tirées des deux autres groupes de malades traités : *l'un* par des schémas classiques plus ACTH ou corticostéroïdes ; *l'autre* par les mêmes schémas classiques sans corticostéroïdes. Il en ressort qu'en fin de compte la corticothérapie ne mène pas à une augmentation du pourcentage des négativations des crachats et des effacements radiologiques. Il est à noter quand même que chez nos malades (Tableau 2) le processus de la guérison ou bien la résorption des infiltrats et le nettoyage des cavernes s'est passé d'une manière plus frappante et plus rapide sous corticothérapie associée qu'en l'absence de celle-ci.

Nous en avons tiré la conclusion que même si la corticothérapie initiale n'est pas indiquée comme conduite de routine, d'autant moins que les corticostéroïdes ne sont pas partout suffisamment disponibles, il y a des formes de tuberculose, particulièrement celles à lésions récentes et à substrat

exsudatif évident, où l'association des corticostéroïdes juste au début du traitement initial peut apporter des bénéfices indiscutables. Il reste aux cliniciens qui traitent de tels cas et qui ont à leur disposition les hormones corticostéroïdes, d'en faire l'usage le meilleur. Cela n'empêchera pas les autres, qui ne disposent pas de corticostéroïdes, de faire des traitements initiaux hautement efficaces et à grande échelle par des tuberculostatiques classiques sans nulle médication hormonale.

TABLEAU 2.

Résultats de la corticothérapie initiale associée de la tuberculose

n° des cas	Schéma thérapeutique	Résultats très favorables
30	Schéma double + corticothérapie	60 %
67	Schéma double	34,3 %
34	Schéma triple + corticothérapie	64,7 %
67	Schéma triple	49,5 %

Quelques particularités du traitement de consolidation. — Si on ne perd pas de vue le caractère de mesure prophylactique de masse que nous assignons à la chimiothérapie initiale, il faut attirer encore l'attention sur deux particularités de la méthode dans les pays en cours de développement. La première particularité se rapporte aux schémas thérapeutiques de la deuxième phase du traitement initial, qui commence pour certains auteurs au 7ème mois, pour d'autres après douze mois de chimiothérapie.

En Roumanie, comme presque partout en Europe, nous sommes habitués à continuer le traitement à deux tuberculostatiques jusqu'au 12ème ou même jusqu'au 24ème mois. On remplace après 6 mois la SM par le PAS ou par l'Ethionamide, mais on ne renonce aux schémas doubles qu'après avoir obtenu la guérison soi-disant définitive.

Toutefois il arrive que cette conception ne puisse pas être traduite en réalité dans tous les pays. C'est en raison de cela qu'on doit considérer comme extrêmement intéressante la proposition faite par Canetti à la même Conférence internationale de Rome en 1963, proposition selon laquelle, à partir du 6ème mois, la deuxième phase du traitement initial pourrait être continuée, sans préjudices pour les malades, avec un seul tuberculostatique, en l'espèce avec l'INH. L'expérimentation supplémentaire assez restreinte, mais quand même concluante, qu'on a faite dans la cadre de « l'étude internationale sur l'efficacité de la chimiothérapie chez les malades atteints de tu-

berculose pulmonaire et non traités auparavant » — a laquelle nous avons déjà fait allusion — a nettement montré qu'à la fin de la 52^{ème} semaine du traitement, les résultats chez les malades traités (à partir du 6^{ème} mois) par un seul tuberculostatique (l'INH) ou par deux, ont été tout à fait semblables.

Cette constatation donne un support scientifique à une conduite thérapeutique qu'on pratique d'ailleurs depuis plusieurs années dans certains pays en cours de développement (citons par exemple l'Inde), *non* par conviction mais par la force des conditions existantes dans ces pays-là, où le problème ne se pose pas de faire des traitements doubles *ou* de la monothérapie, mais de faire, souvent d'emblée, de la monothérapie, *ou* de n'en faire aucune.

La deuxième particularité que je voulais souligner se réfère au fait que, dans les mêmes pays en cours de développement, les traitements initiaux ne peuvent être effectués à l'hôpital que pour une petite minorité des cas, la grande majorité des malades devant être soumise, dès le début, à des traitements ambulatoires. Il n'en est pas moins vrai que si on aborde de plus près le problème des traitements ambulatoires, ce ne sont pas seulement les pays en cours de développement de l'Asie ou de l'Afrique qui tâchent d'en profiter, mais également, quoiqu'en moindre mesure, la majorité des pays européens.

En effet le problème d'assurer les lits d'hôpital ou de sanatorium nécessaires pour les traitements initiaux, sans empiéter sur les lits destinés au traitement des tuberculeux chroniques, n'est pas, presque pour aucun pays, un problème résolu. Dans ces conditions la solution des traitements initiaux ambulatoires n'est pas du tout à être déconsidérée. Au contraire, de l'expérience existante il s'en suit que la technique et les indications spéciales de la chimiothérapie initiale ambulatoire, dont les aspects médicaux et non médicaux ont été maintes fois discutés (à New-Delhi, à Toronto ou à Rome), devraient être plus fermement précisés et que la méthode comme telle devrait être appliquée avec plus de courage et à plus large échelle.

Tout en nous excusant de ne citer encore que les données de notre pays, nous pouvons relater que sur un nombre de plus de 2000 cas de tuberculeux de gravité différente totalisés de plusieurs statistiques, qui furent soumis dès le commencement à un traitement ambulatoire par deux tuberculostatiques (y compris l'INH), 80 % présentèrent, après 6 mois, des bacilloscopies négatives aux cultures répétées. Ce sont des résultats qui ne diffèrent pas trop de ceux publiés par d'autres auteurs et qui — détail qui nous intéresse ici en première ligne — tout en ne s'éloignant pas essentiellement de ceux obtenus à l'hôpital, rendent le prix et la possibilité des traitements initiaux sensiblement plus convenables.

Voilà une des raisons, quoique ce ne soit pas la plus importante, pour qu'en Roumanie on n'ait plus de parti pris envers le traitement initial

ambulatoire. Nous recommandons toujours que la phase initiale du traitement soit effectuée à l'hôpital, mais nous ne nous abstenons pas de faire de plus en plus fréquemment des traitements ambulatoires, surtout chez les malades porteurs de foyers minimes pulmonaires, des infiltrats ou des cavernes récentes sans bacilles à l'examen direct des crachats et à l'état général satisfaisant.

Le rôle prophylactique de la chimiothérapie initiale. — Il nous reste maintenant, en revenant au but principal de nos considérations, à essayer de délimiter le lieu ou le poids spécifique qui revient dans l'étape actuelle à la chimiothérapie initiale, stationnaire ou ambulatoire, dans les programmes de lutte antituberculeuse.

Dans les pays à endémie tuberculeuse moyenne et à organisation et armement antituberculeux avancés (comme presque tous les pays européens), les méthodes de lutte contre la tuberculose sont toutes et simultanément mises en action à l'aide des Dispensaires antituberculeux ou d'autres institutions similaires.

En Roumanie par exemple (vous me pardonnerez cette parenthèse à but informatif) pour une population de 18.927.000 habitants, il y a un nombre de 210 dispensaires antituberculeux, ce qui revient à un dispensaire pour à peu près 90.000 habitants.

Les lits affectés aux différents profils de la tuberculose totalisent 32.800, cela veut dire une moyenne de 1,7 lits pour 1000 habitants (chiffre qui va monter dans quelques années à 1,9).

Le nombre des médecins spécialistes qui travaillent dans ces unités se monte à 1400.

Toutes les unités (Institutions) antituberculeuses appartiennent à l'Etat et sont dirigées par un commandement unique du Ministère de la Santé publique et des Prévoyances sociales, avec l'assistance technique de l'Institut et des Cliniques de Phtisiologie.

Dans chacune des 16 régions du pays il y a une Section Sanitaire et un phtisiologue en chef qui répond de l'organisation de la lutte antituberculeuse dans le territoire respectif.

L'assistance et la prophylaxie antituberculeuse sont entièrement gratuites.

La situation actuelle de l'endémie peut être définie par une mortalité tuberculeuse qui est tombée de 180 (en 1946) à 24,5 (en 1964) pour 100.000 habitants ; par une incidence de la maladie qui s'est abaissée elle aussi de plus de 400 (en 1946) à 184 (en 1964) pour 100.000 habitants, et par une prévalence qui ne dépasse pas 0,9 %.

La lutte contre la tuberculose est basée en principe, comme dans tous les pays à endémie similaire, sur l'application simultanée de trois couples d'actions, qui s'adressent chacun à un certain anneau du cycle ou du cercle de l'infection et de la maladie tuberculeuse.

Je viens de dire « cercle » parce que, si on imagine le cycle de l'infection-maladie tuberculeuse comme un circuit épidémiologique à plusieurs anneaux, où les infectés donnent naissance aux malades incipients, les malades incipients aux malades chroniques et ceux-ci, à leur tour, engendrent de nouveaux infectés et ainsi de suite, il s'ensuit qu'il se forme vraiment une espèce

de *circulum vitiosum* dont l'interruption s'avère assez difficile. Nous allons y revenir tout de suite (Fig. 1).

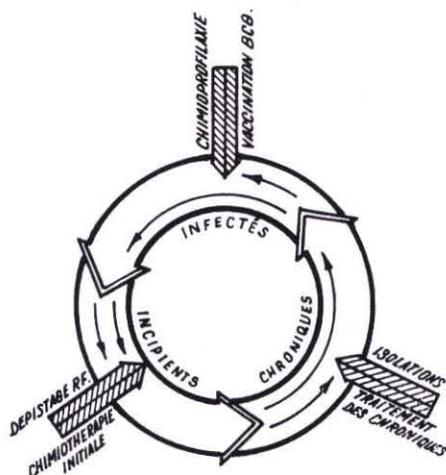


Fig. 1. — Le « cercle vicieux » de la tuberculose.

Le *premier* couple d'actions antituberculeux est constitué par les *dépistages tuberculiques*, couplés selon le cas, soit avec des vaccinations BCG soit avec des actions de chimioprophylaxie. Ce couple s'adresse au premier anneau du circuit épidémiologique auparavant mentionné qui contient la population infectée ou en imminence d'être infectée, ayant comme but de renforcer la résistance de l'organisme envers l'infection ou de rendre cette dernière inopérante dès le commencement.

Le *deuxième* couple d'actions, constitué par l'isolement et par les traitements prophylactiques, s'adresse à l'anneau du circuit qui contient des malades chroniques ; il a comme but de limiter les possibilités d'expansion de l'infection.

Enfin, *last but not least*, le *troisième* couple, formé par les dépistages radiophotographiques couplés avec des traitements initiaux à tuberculostatiques, s'adresse à l'anneau du circuit qui contient les malades incipients, ayant comme but d'en prévenir la chronicisation et, bien sûr, d'en obtenir la guérison.

Eh bien, si l'on parle du rôle qui revient, ou qui doit revenir, au traitement initial (ou au couple dépistages RF — chimiothérapie initiale) dans l'ensemble des « forces de frappe » de la lutte contre la tuberculose, nous affirmons, et beaucoup d'autres l'affirment aussi, qu'il s'agit d'un *rôle décisif*. En vérité, tandis que le premier couple d'actions (vaccinations BCG —

chimioprofylaxie) de même que le deuxième couple (isolements et traitements des chroniques) sont d'une efficacité sinon douteuse, en tout cas incomplète, ce qui les rend incapables d'interrompre le cercle vicieux de la tuberculose (dont nous parlions tout à l'heure), *le troisième couple*, celui des dépistages RF et des traitements initiaux, à condition d'être correctement mis en action, possède une telle efficacité qu'il est le seul capable de réaliser l'interruption du cercle vicieux auparavant discuté : et cela parce qu'il est le seul capable de *barrer*, pour ainsi dire, presque à 100 %, la transformation des malades incipients non contagieux, ou peu contagieux, en des malades chroniques, hautement contagieux et difficilement curables.

On pourrait dire que le couple dépistage RF — traitement initial constitue, ou devrait constituer dans l'étape actuelle, *le fondement de la lutte antituberculeuse*, dont aucun pays, plus ou moins avancé, ne peut plus se dispenser.

Il y a à présent des pays qui n'appliquent *pas* ou qui n'appliquent *plus* les vaccinations BCG, comme il y en a qui n'ont pas encore introduit la chimioprofylaxie, mais il n'y a aucun pays où la chimiothérapie initiale ne soit au centre de l'attention. L'introduction des dépistages RF en masse et des traitements initiaux systématiques ouvre même, pour la première fois, la possibilité d'envisager des programmes de liquidation totale ou d'éradication de la tuberculose.

Le mutazioni indotte e la loro importanza per l'uomo (*)

CHARLOTTE AUERBACH

*Medical Research Council, Mutagenesis Research Unit, Institute of Animal Genetics,
Edinburgh, Great Britain.*

Nella applicazione pratica delle ricerche sulle mutazioni si possono perseguire due opposte finalità. L'una — negativa — è la riduzione, per quanto possibile, delle mutazioni prodotte dalle radiazioni ionizzanti e da sostanze chimiche usate nei paesi civilizzati. L'altra — positiva — è invece l'aumento di certi tipi di mutazioni utili per scopi specifici, per esempio la terapia del cancro o la produzione di ceppi migliorati di cereali.

L'aspetto pericoloso della mutazione sta nel fatto che la maggior parte delle mutazioni hanno effetti dannosi. Per gli studiosi di genetica, questo fatto non è sorprendente. Le mutazioni avvengono anche senza trattamento fisico o chimico, e sebbene la mutazione « spontanea » sia un evento rarissimo, essa si verifica tuttavia con una frequenza regolare, all'incirca di 10^{-6} per gene per ciclo di generazione cellulare. Perciò è molto probabile che le mutazioni indotte con mezzi artificiali non siano nuove nel senso che si verificano per la prima volta. Al contrario, è probabile che tutte queste mutazioni si siano già verificate molte volte. Attraverso i lunghi periodi di evoluzione, la selezione naturale ha preservato quelle che erano utili nella lotta per l'esistenza, di modo che questi geni mutati nel passato costituiscono ora parte del genotipo normale. Rimangono le mutazioni dannose che, dunque, costituiscono la maggioranza delle mutazioni « nuove ».

I pericoli genetici della radiazione, particolarmente del *fall-out*, sono stati studiati in molti laboratori. Nel nostro, abbiamo indagato soltanto un problema: la possibilità che le dosi di raggi X molto alte usate per sterilizzare alimenti umani abbiano un effetto mutageno. Qualche anno fa, alcuni ricercatori indiani osservarono delle rotture cromosomiche nelle radici di piante tenute in succhi di frutta o in soluzioni di glucosio fortemente irradiati; questa osservazione fu confermata da altri ricercatori. Prima di allarmarsi per eventuali effetti sulla nostra specie, fu cercata conferma del fenomeno su materiale animale. Esperimenti sulla mosca *Drosophila*, fatti in India e U.S.A., sembrarono dimostrare un lievissimo aumento nelle mu-

(*) Conferenza tenuta nell'Istituto Superiore di Sanità il 29 marzo 1966.

tazioni quando le larve erano allevate su un mezzo di coltura trattato con una alta dose di radiazione. Tuttavia nel nostro laboratorio un mezzo di coltura esposto alla stessa dose non produsse nessun effetto mutageno. Sembra che l'azione mutagena del nutrimento irradiato per la *Drosophila* sia tanto lieve da potersi manifestare soltanto in condizioni speciali.

Alcuni mesi fa arrivò da Vienna un rapporto molto più allarmante. Uno studioso Indiano della locale Università riferì che nelle cellule germinali dei maschi di *Drosophila*, si producono molte mutazioni se il mezzo di coltura contiene DNA commerciale trattato con una forte dose di raggi X. Infatti, le mutazioni in questo esperimento erano tante quante ne vengono prodotte dall'irradiazione diretta delle mosche con 2000 r. Dopo questo sconcertante risultato, l'esperimento fu ripetuto in diversi laboratori. In ogni caso, il risultato fu chiaramente negativo, benchè nel nostro laboratorio avessimo usato lo stesso mezzo di coltura — piuttosto strano — che era stato usato dal ricercatore indiano. Sembra che il risultato originale — ottenuto in un solo esperimento — sia stato prodotto da qualche causa differente dalla radiazione.

La rara azione mutagena di alimenti irradiati deve essere attribuita a delle molecole assai stabili che nascono ad opera dei raggi X. Da questo fatto deriva la difficoltà nell'estrapolare dagli effetti ottenuti in organismi inferiori agli effetti attesi nella specie umana. Mentre è praticamente certo che le radiazioni ionizzanti sono mutageni per ogni organismo, dal virus all'uomo, questo non è vero per le sostanze chimiche, salvo forse per alcuni composti altamente reattivi come le ipriti. Al contrario, molti agenti mutageni chimici manifestano un'azione più o meno selettiva per singoli organismi, ceppi, sessi, tipi di cellule, geni. Inoltre, l'azione mutagena d'un composto può dipendere dal modo d'applicazione. Ne darò, qui di seguito, alcuni esempi, trovati nel nostro laboratorio.

Molti anni fa, due ricercatori degli U.S.A. osservarono che la caffeina produce mutazioni nei batteri, risultato che è poi stato confermato da altri studiosi. Se la caffeina avesse lo stesso effetto sulle nostre cellule germinali, vi sarebbe motivo di preoccupazione. È stato calcolato che in questo caso la quantità di caffeina consumata nelle nazioni dove si bevono molte tazze di té (come in Inghilterra) o molte tazze di caffè (come in Italia e negli U.S.A.) sarebbe abbastanza grande da costituire un pericolo genetico. Però, quando l'effetto mutageno della caffeina fu saggiato, da ricercatori americani, sulla *Drosophila*, i risultati furono simili a quelli ottenuti con nutrimento irradiato: non è neanche certo che la caffeina produca un qualsiasi effetto mutageno sulle mosche.

L'azione della caffeina sui topi è stata studiata nel nostro laboratorio — in Scozia — e in Inghilterra. L'acqua potabile somministrata agli animali sperimentali conteneva la massima concentrazione di caffeina tolle-

rabile senza effetti dannosi. La durata del trattamento fu sufficiente per garantire l'esposizione di tutte le fasi delle cellule germinali. Nel laboratorio inglese, il trattamento fu cominciato fin da prima della nascita, somministrando caffeina alle madri gravide degli animali sperimentali. I risultati di tutt'e due le esperienze furono però negativi: il trattamento non produsse né mutazioni geniche né rotture cromosomiche. Che cosa si può concludere da questi esperimenti? È una questione molto difficile. Se consideriamo che noi somigliamo molto più ai topi che ai batteri, possiamo trarre conforto dai risultati negativi sui topi. Ma se siamo cauti, ci ricorderemo dell'alta specificità dei composti soggetti al metabolismo di organismi diversi. Ci sia di monito il caso dell'uretano, che produce dei tumori polmonari nei topi ma non nei conigli.

Come la caffeina, anche la nicotina si è mostrata inefficace in esperimenti sui topi. Incidentalmente, questi esperimenti hanno rivelato lo strano fatto che le femmine, particolarmente le femmine gravide, sono meno sensibili dei maschi all'azione tossica della nicotina.

La formalina ha l'azione più selettiva tra quelle di tutti gli altri mutageni conosciuti. Se è somministrata in soluzione alle spore di funghi o alle gonadi di *Drosophila*, è un mutageno debole e, nella *Drosophila*, produce mutazioni soltanto nei maschi. È probabile che l'effettivo mutageno in questi esperimenti sia un perossido organico. Se la formalina è data, nel mezzo di coltura, alle larve di *Drosophila*, l'azione mutagena è forte, ma è limitata ad una sola fase, e ad un solo tipo di cellula germinale: la replicazione del DNA negli spermatozoi. Inoltre, non si ha alcun effetto mutageno quando manca l'adenosina nel mezzo di coltura.

Dunque, che cosa rispondere agli allevatori di maiali che domandano se la sterilizzazione del latte con la formalina possa produrre delle mutazioni negli animali che ne bevono o nelle persone che mangiano la carne di questi animali? Penso che non ci sia motivo di allarmarsi per i consumatori della carne, ma sono molto meno certa per quanto riguarda la prima questione. In effetti, la polvere di latte trattato con la formalina, ha un'azione fortemente mutagena sui maschi di *Drosophila*; ma poichè quest'azione non si esercita sulle femmine di *Drosophila*, non è possibile predire se essa si estende ai maiali. Sfortunatamente, le ricerche con mutageni sui topi sono molto laboriose e costose; a mio parere, tuttavia, il saggio d'un eventuale effetto mutageno della formalina su questi animali sarebbe di grande valore.

Ora, guardiamo un po' l'aspetto positivo dello studio dei mutageni nell'interesse umano. Per alcuni scopi, abbiamo bisogno di un aumento nella frequenza delle mutazioni o — più precisamente — delle mutazioni d'un certo tipo.

Nella terapia moderna del cancro, agenti alchilanti — azoto-ipriti, epossidi, etilenimine e altri — sono di grande importanza. C'è una impres-

sionante correlazione fra l'azione mutagena e l'azione carcinostatica dei composti di questo tipo. All'inizio della seconda guerra mondiale, la mutagenicità delle azotoipriti fu scoperta in Scozia e il loro effetto carcinostatico in U.S.A. Più recentemente si sono realizzate le sintesi di molti agenti alchilanti che sono mutageni carcinostatici. La causa di questa correlazione, già conosciuta da lungo tempo per le radiazioni ionizzanti, è la produzione di rotture cromosomiche ad opera dei composti attivi. Le rotture cromosomiche non fanno grande danno a una cellula che non si divide, ma uccidono le cellule in divisione, o per mezzo di ostacoli meccanici alla mitosi o perché danno luogo a cellule figlie con una deficienza di pezzi cromosomici. Perciò i tumori, che tipicamente contengono molte cellule in divisione, sono più sensibili all'effetto delle rotture cromosomiche che i tessuti normali ad essi circostanti.

Nonostante questa correlazione generale fra l'azione mutagena e l'azione carcinostatica degli agenti alchilanti, già molti anni fa si rivelò una contraddizione. Mentre l'azione carcinostatica richiede la presenza di due o più gruppi alchilanti nella molecola (ci sono alcune rarissime eccezioni), questo non è vero per l'azione mutagena. Poiché l'azione carcinostatica dipende da rotture cromosomiche piuttosto che da mutazioni geniche, si potrebbe pensare che soltanto i composti « bifunzionali » o « polifunzionali » siano capaci di rompere i cromosomi o che, per lo meno, siano molto più efficaci, a questo riguardo, rispetto ai composti « monofunzionali ». Questa ipotesi è molto difficile da provare. Le comparazioni fra gli effetti genetici di due composti sono senza significato, a meno che non siano eseguite a concentrazioni simili, e noi manchiamo dei mezzi per precisare le concentrazioni che pervengono ai cromosomi delle cellule germinali. È vero che, generalmente, i composti bi- o polifunzionali sono attivi a concentrazioni meno alte di quelle a cui lo sono i composti monofunzionali di struttura chimica simile, ma questa differenza può avere una quantità di cause diverse; inoltre, essa si riferisce ugualmente alle rotture cromosomiche — che sono carcinostatiche — e alle mutazioni geniche — che non lo sono. Nel nostro laboratorio abbiamo saggiato la quantità d'un composto che penetra nei cromosomi degli spermatozoi di *Drosophila* attraverso la frequenza di mutazioni geniche d'un certo tipo, e abbiamo valutato le frequenze di rotture cromosomiche in spermatozoi esposti alla stessa concentrazione « effettiva » sia d'un agente monofunzionale sia d'un agente polifunzionale di simile struttura chimica. In questo modo due paia di composti sono stati comparati: (1) l'etilenimmina con la trietilenimmina (TEM), che porta tre gruppi di etilenimmina, (2) l'eossido con il diepossibutano (DEB), che è composto di due gruppi di eossido. In ambedue casi, l'agente monofunzionale fu per lo meno uguale all'agente polifunzionale nella capacità di produrre rotture cromosomiche. Dunque, almeno per queste paia di sostanze la ipotesi della supe-

riorità degli agenti polifunzionali in questo rispetto è stata confutata, e la loro superiorità come agenti carcinostatici rimane un problema.

Credo che i più recenti risultati ottenuti dal nostro gruppo indichino una eventuale soluzione. La ricerca che produsse questi risultati fu provocata da due osservazioni: l'una genetica, l'altra chimica. Esperimenti fatti prima in U.S.A. e confermati nel nostro laboratorio hanno dimostrato un effetto ritardato degli agenti alchilanti bi- o polifunzionali sugli spermatozoi di *Drosophila*. Se spermatozoi esposti a queste sostanze non sono utilizzati subito per fertilizzare le uova, ma sono invece mantenuti per una settimana nei ricettacoli seminali di femmine non trattate, la frequenza di rotture cromosomiche subisce un aumento veramente impressionante (da 10 a 15 volte), mentre quella delle mutazioni geniche non cambia. Più recentemente, indagini chimiche condotte in Inghilterra hanno dimostrato che nel DNA esposto *in vitro* a un composto bifunzionale la degradazione chimica continua per molti giorni dopo la terminazione del trattamento; al contrario, dopo trattamento con un composto monofunzionale, quest'effetto ritardato non esiste o è molto debole.

Il parallelismo fra i risultati genetici e chimici per i composti bifunzionali ci ha suggerito che si possa trovare un simile parallelismo per i composti monofunzionali, cioè che anche in vivo, nei ricettacoli seminali di femmine non trattate, gli agenti monofunzionali non producano un effetto ritardato. Esperimenti fatti con le paia di composti usati negli esperimenti già descritti hanno confermato questa ipotesi: dopo trattamento di spermatozoi con etilenimina o epossido, la frequenza di rotture cromosomiche non cambiò punto durante un soggiorno di una settimana nei ricettacoli delle femmine. Dunque, dopo una settimana la frequenza di rotture cromosomiche, che all'inizio era stata uguale per le due sostanze dello stesso paio, fu molto più alta negli spermatozoi trattati con l'agente bi- o polifunzionale. Poiché nel trattamento del cancro c'è sempre l'opportunità per un effetto ritardato, mi sembra possibile che quell'effetto presente negli agenti polifunzionali, assente negli agenti monofunzionali, sia la causa della loro differenza come agenti carcinostatici.

Il miglioramento genetico di organismi utili all'uomo è il secondo scopo che richiede un aumento delle mutazioni con mezzi artificiali. Al contrario della terapia del cancro, questo processo non richiede rotture cromosomiche ma mutazioni geniche. In ogni caso particolare, ci sono soltanto certi tipi di mutazioni che occorrono. Può darsi, per esempio, che un coltivatore di cereali voglia migliorare la qualità della farina prodotta dal suo grano, o che un fabbricante di birra abbia bisogno di un ceppo migliorato di lievito. Al presente non siamo capaci di controllare e dirigere la mutagenesi al di là di un aumento più o meno generale di tutti i tipi di mutazioni. Poiché, come ho già detto, la maggioranza delle mutazioni sono dannose, il prezzo di una

mutazione del tipo desiderato è circa un migliaio di mutanti dannosi che muoiono o debbono essere scartati. Uno studioso di micro-organismi può pagare questo prezzo; non è troppo alto neppure in molti casi di miglioramento delle piante coltivate; sarebbe proibitivo per il miglioramento del bestiame. Sarebbe dunque di massima importanza se arrivassimo un giorno a produrre mutazioni specifiche per mezzo di agenti mutageni ad alta specificità. La scoperta di una grande diversità di mutageni chimici suscitò la speranza che potessimo giungere a questo traguardo attraverso delle reazioni specifiche tra geni e mutageni. Questa speranza non era irragionevole finché congetturavamo che ogni gene fosse una molecola complessa di proteina; ma essa è stata esclusa quando ci si rese conto che tutti i geni sono combinazioni e permutazioni di quattro diversi nucleotidi. Pure nel caso che un composto mutageno reagisse soltanto con uno dei nucleotidi o con una breve sequenza di nucleotidi, ci saranno sempre nel materiale genetico migliaia di copie di questo nucleotide o centinaia di queste sequenze. Inoltre, per il nostro scopo non abbiamo bisogno di alterazioni specifiche nel DNA, ma di cambi specifici del fenotipo, sia nella struttura sia nella fisiologia dell'organismo, ed essi possono dipendere da molti diversi geni.

A mio parere, ciò non vuole dire che dobbiamo abbandonare ogni speranza di controllare la direzione della mutagenità, almeno fino a un certo punto. Nella nostra era del DNA si dimentica troppo spesso che la mutazione è un processo biologico e cellulare, iniziato ma non terminato da una alterazione chimica nel DNA. Se o no quest'alterazione produca un ceppo mutato di cellule, cioè un ceppo con un nuovo carattere ereditario, dipende dal percorso ben riuscito di una serie di tappe attraverso le quali la nuova informazione del DNA è finalmente trascritta in un nuovo comportamento biochimico delle cellule, forse in un nuovo tipo di struttura. Se il processo mutageno è interrotto in una di queste tappe, la mutazione non può essere osservata e selezionata. Queste tappe dunque agiscono come una serie di crivelli nel processo mutageno e, per mezzo di selezione interna, possono influire sui tipi di mutazioni alla fine osservate. Lo studio di questa possibilità è appena iniziato. Vorrei darvi due risultati ottenuti nel nostro laboratorio, che dimostrano una specificità mutagena ad una delle tappe intermedie del processo mutageno.

In una specie di lievito, ci sono ceppi con una esigenza per l'adenina (ad^-). Cellule di questi ceppi non possono crescere su un substrato che non contiene l'adenina, salvo quelle che hanno perduto l'esigenza biochimica in seguito a una mutazione ($ad^- \rightarrow ad^+$). La frequenza delle mutazioni può essere aumentata da diversi agenti mutageni. Però, se il substrato contiene della metionina, non c'è nessuna mutazione dall' ad^- all' ad^+ , o ve ne sono molto poche. L'inibizione delle mutazioni ad opera della metionina si verifica prima della formazione di cellule mutate, perché cellule che sono

ad^+ in seguito ad una mutazione antecedente crescono bene su un substrato contenente la metionina. Inoltre, l'inibizione ad opera della metionina è specifica per le mutazioni $ad^- \rightarrow ad^+$; altri tipi di mutazione non sono inibiti. Infine, il grado dell'inibizione dipende da diversi fattori, tra essi il ceppo di lievito e il mutageno. Dunque, se uno volesse controllare la proporzione delle mutazioni $ad^- \rightarrow ad^+$ in questa specie, potrebbe farlo scegliendo la giusta combinazione di ceppo, mutageno e substrato.

In un ceppo del fungo *Neurospora* che richiede sia l'adenina che l'inositolo, il diepossibutano (DEB) produce molte mutazioni $ad^- \rightarrow ad^+$ e nessuna o pochissime mutazioni $inos^- \rightarrow inos^+$. Se cellule di questo ceppo sono esposte a una debole dose di DEB, appena sufficiente per dare alcune mutazioni $ad^- \rightarrow ad^+$, un trattamento successivo con i raggi U.V. produce molte più mutazioni $ad^- \rightarrow ad^+$ e molte meno mutazioni $inos^- \rightarrow inos^+$ di quante ne avrebbe prodotte in cellule non pretrattate col DEB. Sembra che il DEB, oltre a produrre un'alterazione chimica nel DNA, apra uno dei crivelli nel processo che conduce a una cellula ad^+ e ne chiude uno nel processo che conduce a una cellula $inos^+$. Il grado della « sensibilizzazione » alla mutazione $ad^- \rightarrow ad^+$ dipende dalla dose di DEB e dal mutageno usato per il secondo trattamento. Se uno volesse controllare la proporzione fra le mutazioni $ad^- \rightarrow ad^+$ e $inos^- \rightarrow inos^+$ in questo ceppo, potrebbe farlo scegliendo la giusta combinazione di tipi e dosi di mutageni.

Spero che questo discorso vi abbia dato una veduta dei modi attraverso cui i risultati della ricerca sui mutageni possono essere utilizzati per scopi pratici. Ma vorrei sottolineare che le indagini fatte nel nostro laboratorio e in altri laboratori dove si studia la mutagenicità, sono intese anzitutto allo studio degli aspetti fondamentali del processo mutagenico. In questa sfera, come in tante altre, vi è una mutua fecondazione fra la scienza fondamentale e lo studio dei problemi e dei procedimenti pratici.