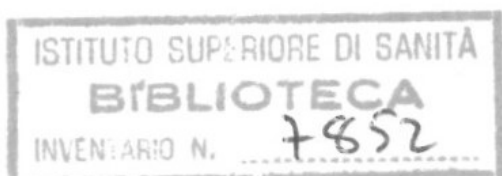


RENDICONTI

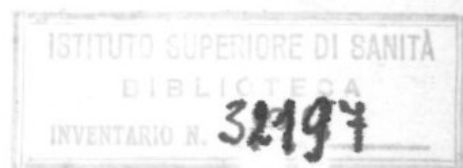
ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ



VOLUME XIII

ISTITUTO SUP. SANITÀ
UFF. CONSEGnatARIO
RIC.NE II CTG - INV. N.

42300



ROMA: FONDAZIONE EMANUELE PATERNÒ
VIALE REGINA MARGHERITA, 299 : ANNO 1950

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

DIRETTORE GENERALE

Prof. DOMENICO MAROTTA

CAPIS DEI LABORATORI E REPARTI

BIBLIOTECA-SEGRETARIA DIDATTICA-MUSEO: MASSIMO PANTALEONI - *BIOLOGIA*: ANTONIO GALAMINI - *CHIMICA*: DOMENICO MAROTTA - *CHIMICA TERAPEUTICA*: DANIELE BOVET - *EPIDEMIOLOGIA*: PIETRO ZANNELLI - *FISICA*: GIULIO CESARE TRABACCHI - *INGEGNERIA*: EUSEBIO VACINO - *MICROBIOLOGIA*: ROMANO MAGGIORA-VERGANO - *PARASSITOLOGIA*: ALBERTO MISSIROLI

E. B. CHAIN F.R.S., *INCARICATO DEI CORSI DI BIOCHIMICA*

FOTOGRAFIE, TAVOLE, DIAGRAMMI, DISEGNI
ESEGUITI DAI FOTOGRAFI E DISEGNATORI DELL'ISTITUTO
A. PICCIRILLI - A. PACELLI

DISEGNO NEL FRONTESPIZIO: FOCO A ROTA DI CARBONI ACCESI (1464)

1. GIUSEPPE GIUNCHI e UGO MAROTTA. — Gli agenti microbici della endocardite batterica subacuta (endocardite lenta maligna)(*).

Riassunto. — Il problema eziologico della endocardite batterica subacuta (endocardite lenta maligna) viene esaminato dal punto di vista batteriologico.

In base ai dati più recenti della letteratura e alla personale esperienza, derivante dallo studio di oltre 80 casi di endocardite batterica subacuta, osservati nel corso di 10 anni, viene dimostrato che la dottrina della specificità eziologica della endocardite batterica subacuta non è più accettabile.

Certamente gli streptococchi sono gli agenti microbici più frequentemente in causa nella genesi di questa malattia, e tra questi il primo posto spetta agli streptococchi viridanti, ma anche altri germi, appartenenti alle più diverse specie, possono in singoli casi provocare la endocardite subacuta.

Vengono esposti i criteri in base ai quali è oggi possibile differenziare gli streptococchi, viridanti e non viridanti, in gruppi aventi caratteristiche biochimiche e immunologiche già in parte ben definite.

I più comuni agenti microbici diversi dagli streptococchi, che possono esser causa di endocardite batterica subacuta, vengono pure brevemente ricordati.

Si richiama infine l'attenzione sul valore non soltanto teorico e dottrinale, ma anche clinico-pratico, diagnostico, prognostico e terapeutico, delle ricerche di batteriologia clinica nella endocardite batterica subacuta; la importanza pratica di questi studi è infatti divenuta assai notevole dopo la introduzione di una terapia efficace della endocardite batterica subacuta per mezzo degli antibiotici.

Résumé. — Le problème étiologique de l'endocardite bactérienne subaiguë (endocardite maligne à évolution lente) a été examiné critiquement sur la base des données obtenues au cours des plus récentes réalisations de la microbiologie. L'intérêt pour les recherches tendant à approfondir de plus en plus nos connaissances sur les agents microbiens de l'endocardite bactérienne subaiguë s'est accru notablement dans ces derniers cinq ans.

En effet, on a compris universellement que la possibilité de pratiquer une thérapie antibiotique vraiment efficace de l'endocardite bactérienne subaiguë est étroitement liée à la connaissance précise des agents microbiens qui en sont la cause.

Sur la base des données résultant des études les plus modernes en matière et de la casuistique personnelle, les AA. démontrent qu'on ne peut plus soutenir la doctrine de la spécificité étiologique, d'après laquelle le *Strepto-*

(*) Lavoro pervenuto in Redazione il giorno 30 luglio 1949.

coccus mitior seu viridans serait le seul agent pathogène de l'endocardite bactérienne subaiguë.

Ici au contraire on affirme qu'il y a effectivement des cas d'e.b.s. dus à des germes qui ne sont pas le *Streptococcus mitior seu viridans*.

Après, on passe rapidement en revue nos connaissances actuelles sur les agents microbiens de l'e.b.s., en distinguant d'une part les streptocoques de l'e.b.s. et d'autre part tous les germes, assez nombreux, qui ne sont pas des streptocoques mais qui peuvent aussi être la cause de la maladie.

Les streptocoques, qui sont sans doute les microbes le plus souvent en cause, sont classifiés suivant trois critères fondamentaux : le comportement sur les milieux au sang ; l'activité biochimique sur des substrata différents ; la diversité des antigènes, qui permet de classer une partie au moins des streptocoques par groupes ou par espèces, que l'on peut différencier sérologiquement.

Après avoir brièvement analysé les propriétés physiologiques des streptocoques, telles qu'elles résultent des divers essais effectués dans les trois directions ci-dessus mentionnées, les AA. appliquent ces modernes acquisitions aux streptocoques de l'e.b.s.

Ceux-ci peuvent être répartis en streptocoques « viridants », c'est-à-dire de type *viridans*, et en streptocoques non viridants.

Des streptocoques viridants on examine les germes suivants : *Str. salivarius* ; *Str. mitis* ; *Str. bovis* ; *Str. equinus* ; *Str. acidominimus* et *Str. thermophilus*.

De ces streptocoques on peut considérer comme agents étiologiques possibles de l'e.b.s. les streptocoques : *mitis*, *bovis* et *salivarius*. — A ceux-ci il faudrait ajouter, selon des études très récentes, une variété particulière de streptocoque viridant : le *Streptococcus sanguis* (ou streptococcus s.b.e. de Loewe), qui aurait été isolé presque exclusivement du sang de malades d'e.b.s. et qui aurait la propriété d'être relativement résistant à la pénicilline.

Les caractéristiques biologiques de tous ces streptocoques sont illustrées par les AA. d'une façon synthétique ; ils indiquent la fréquence avec laquelle ces germes apparaissent dans l'e.b.s..

De l'ensemble de nos connaissances actuelles sur la physiologie de ces streptocoques, il est évident que leur classification est encore à considérer comme provisoire, et que des éclaircissements et des modifications ultérieures sont nécessaires pour arriver à une classification définitive.

Des difficultés encore plus grandes se présentent si l'on veut définir et classer les streptocoques non viridants de l'e.b.s. Parmi ceux-ci, on mentionne particulièrement le *Str. faecalis*, qui est le germe le plus important de ce groupe, et le *Str. agalactiae*.

On examine ensuite le problème des variations des caractères biologiques des streptocoques de l'e.b.s.

Après avoir résumé les termes dans lesquels la question est actuellement posée, les AA. font une analyse critique des données fondamentales rapportées par les divers chercheurs pour et contre l'existence de variations dans le groupe des streptocoques de l'e.b.s. et ils concluent par l'affirmation qu'il existe certainement une variabilité dans les propriétés hémolytiques ou viridantes des streptocoques, ainsi que dans leurs autres propriétés biochimiques, mais que de règle ces variations ne s'accompagnent pas de profondes transformations des caractéristiques biologiques fondamentales des souches individuelles, ces caractéristiques restant sans changement.

Dans un dernier chapitre on passe rapidement en revue les principaux microbes, en dehors des streptocoques, qui peuvent être également les agents pathogènes de l'e.b.s., et l'on fait mention d'un facteur ressemblant à un virus, récemment identifié par Magrassi chez des malades d'e.b.s. et appelé « bactériostate », qui pourrait avoir éventuellement une importance considérable dans l'étiologie et la pathogénie de l'e.b.s.

Dans un court chapitre conclusif on démontre que les recherches microbiologiques qui ont été discutées dans ce travail permettent de fixer certaines données ayant désormais le caractère d'acquisitions définitives et possédant une valeur non seulement théorique et doctrinale, mais aussi clinique pratique, diagnostique, pronostique et thérapeutique.

Summary. — The problem of the aetiology of subacute bacterial endocarditis has been examined from the bacteriological point of view.

The authors demonstrate on the basis of the most recent data of the literature and their own observations derived from the study of over 80 cases of subacute bacterial endocarditis over the period of ten years that the theory of the specific aetiology of subacute bacterial endocarditis cannot be maintained.

Certainly the streptococci, and in particular the streptococcus viridans, are most frequently the causative agents of this disease, but other bacteria, belonging to widely divers species, are in some cases capable of causing subacute endocarditis.

The criteria according to which streptococci, of the viridans and non-viridans type, can be classified into characteristic biochemical and immunological groups are discussed.

The most common microbial agents other than the streptococcus capable of causing subacute bacterial endocarditis are briefly discussed.

Attention is drawn to the importance of the clinical bacteriological study of subacute bacterial endocarditis not only from the theoretical point of view, but also from the practical one, i.e. diagnosis, prognosis and therapy;

the practical value of this study has in fact become evident after the introduction of an efficacious therapy of subacute bacterial endocarditis by means of treatment with antibiotics.

Zusammenfassung. — Das ätiologische Problem der subakuten bakteriellen Endokarditis (böartige Endocarditis lenta) ist einer kritischen Prüfung auf Grund der Resultate der neuesten Errungenschaften der Mikrobiologie unterzogen worden. Das Interesse für Untersuchungen, die nach Erwerbung einer möglichst tiefen stets zunehmenden Kenntnis der Krankheitserreger der subakuten bakteriellen Endokarditis hinstreben, hat in diesen letzten 5 Jahren stark zugenommen.

Man hat in der Tat allgemein anerkannt, dass die Möglichkeit der Anwendung einer tatsächlich wirklichen Therapie der subakuten bakteriellen Endokarditis mit der genauen Kenntnis der bakteriellen Krankheitserreger eng verbunden ist.

Auf Grund der Daten, die sich aus den neuesten Studien und den Beobachtungen der persönlichen Kasuistik ergeben, weisen die VV. nach, dass die Lehre der ätiologischen Spezifität, laut welcher der *Streptococcus mitior seu viridans* der einzige Erreger der subakuten bakteriellen Endokarditis sein sollte, sich nicht mehr behaupten kann.

Man gibt dann eine Uebersicht über unsere jetzigen Kenntnisse betreffend die pathogenen Erreger der s.b.E. Dabei unterscheidet man einerseits die Streptokokken der s.b.E., andererseits all die zahlreichen nicht streptokokkenartigen Keime, die trotzdem auch die Erreger dieser Krankheit sein können.

Die Streptokokken, die zweifellos als die für diese Infektion meist in Betracht kommenden Keime anzusehen sind, werden auf Grund der folgenden drei Kriterien klassifiziert: Verhalten der Keime auf Blutnährböden; biochemische Tätigkeit auf verschiedenen Substrata; die antigenische Verschiedenheit, die es gestattet, wenigstens einen Teil der Streptokokken nach Gruppen und Typen zu klassifizieren, die serologisch unterscheidbar sind.

Nach einer kurzen analytischen Prüfung der physiologischen Eigenschaften der Streptokokken, wie sie uns nach den Resultaten der in den drei obenerwähnten Richtungen durchgeführten Untersuchungen erscheinen, werden von den VV. diese neu erworbenen Kenntnisse auf die Streptokokken der s.b.E. angewandt.

Diese können in *viridans* und *nichtviridans* Streptokokken eingeteilt werden (auch «vergrünende» und «nicht vergrünende» Streptokokken genannt).

Aus der Gruppe der Viridans-Streptokokken werden die folgenden Keime untersucht: *Str. salivarius*; *Str. mitis*; *Str. bovis*; *Str. equinus*; *Str. acidominimus* und *Str. thermophilus*.

Von diesen Viridans-Streptokokken können als mögliche ätiologische Erreger der s.b.E. die Streptokokken *mitis*, *bovis* und *salivarius* betrachtet werden. Zu denselben sollte auch, nach den neuesten Untersuchungen, eine besondere Varietät von vergrünendem Streptococcus, der *Streptococcus sanguis* (oder Streptococcus s.b.E. von Loewe) gerechnet werden; dieser Streptococcus soll fast ausschliesslich aus dem Blute von Kranken an s.b.E. isoliert worden sein und die Eigenschaft besitzen, gegen Penicillin einigermaßen widerstandsfähig zu sein.

Die biologischen Charakteristiken all dieser Streptokokken werden hier synthetisch dargelegt: ausserdem wird die Frequenz angegeben, womit diese Keime in der s.b.E. vorkommen.

Aus der Gesamtheit unserer gegenwärtigen Kenntnisse über die Physiologie dieser Streptokokken geht ganz deutlich hervor, dass die jetzige Klassifizierung derselben als eine durchaus provisorische anzusehen ist, und dass weitere Klärungen und Aenderungen dazu zu erwarten sind.

Noch grösseren Schwierigkeiten begegnet man, wenn eine Definition und eine Klassifizierung der nicht viridans Streptokokken gewünscht werden. Von diesen Streptokokken werden der *Str. faecalis*, der der wichtigste Keim dieser Gruppe ist, und der *Str. agalactiae* besonders erwähnt.

Man untersucht dann das Problem der Variationen, die in den biologischen Charakteren der Streptokokken der s.b.E. stattfinden.

Nachdem diese Frage unter ihren heute in Betracht kommenden Gesichtspunkten zusammengefasst worden ist, wird von den VV. eine kritische Analyse der wesentlichen Daten vorgenommen, die von den verschiedenen Forschern für und gegen das Vorhandensein von Variationen im Bereiche der Streptokokken der s.b.E. angeführt worden sind, wobei die VV. zum Schluss kommen, dass sicherlich eine Veränderlichkeit der haemolytischen oder « vergrünenden » Eigenschaften der Streptokokken, sowie auch anderer biochemischer Eigenschaften derselben vorliegt, dass jedoch die vorkommenden Variationen gewöhnlich nicht von tiefgehenden Umwandlungen der wichtigsten biologischen Charakteristiken der einzelnen Stämme begleitet sind, da diese Charakteristiken unverändert bleiben.

Ein letztes Kapitel enthält, in übersichtlicher Darstellung, eine Zusammenfassung der wichtigsten, zur Streptokokkenklasse nicht gehörenden Bakterien, die trotzdem auch die pathogenen Erreger der s.b.E. sein können, und dabei wird ein virusähnlicher Faktor erwähnt, der in letzter Zeit von MAGRASSI in mit s.b.E. behafteten Individuen identifiziert und « Bakteriostat » genannt worden ist, und welchem vielleicht eine erhebliche Bedeutung inbezug auf die Aetiologie und Pathogenese der s.b.E. zukommen könnte.

In einem kurzen Schlusskapitel werden die Resultate dieser Arbeit zusammengefasst, wodurch nachgewiesen wird, dass die darin besprochenen mikrobiologischen Untersuchungen es wohl gestatten, einige Daten festzulegen, die nunmehr als endgültig erworbene Kenntnisse anzusehen sind, und die nicht nur einen wissenschaftlich-theoretischen, sondern auch einen klinisch-praktischen Wert inbezug auf Diagnose, Prognose und Therapie besitzen.

Il problema eziologico della endocardite batterica subacuta ha una storia che conta ormai cinquant'anni. E' una storia interessante in cui l'obiettivo osservazione dei processi morbosi naturali e l'esatto rilievo dei fenomeni sperimentali variamente s'intrecciano con la elaborazione dottrina, non sempre aderente alla realtà dei fatti osservati. Molteplici osservazioni e teorie, spesso discordanti, caratterizzano le varie tappe, attraverso le quali è andata evolvendo la nostra conoscenza della malattia e più precisamente della sua eziopatogenesi, che costituisce tutt'ora un problema non completamente risolto. Non è nostro intendimento addentrarci nel vivo della questione eziopatogenetica. Prenderemo in considerazione uno solo dei vari fattori, più o meno strettamente connessi con la eziopatogenesi della endocardite batterica subacuta, quello batterico. Tralasciamo pertanto di proposito ogni trattazione relativa agli altri momenti predisponenti, o concomitanti, che pure giocano accanto al germe una parte fondamentale nella genesi della malattia.

E' a tutti noto che la batteriologia della endocardite lenta maligna (*) è nata all'inizio di questo secolo con le memorabili osservazioni di SCHOTTMÜLLER (1, 2) compiute fin dall'anno 1900 e rese note nel 1903, le quali portarono alla individuazione di un particolare streptococco, lo *Str. mitior seu viridans*, che fu ritenuto l'agente specifico della malattia. Questa concezione della specificità eziologica dello streptococco viridante fu strenuamente sostenuta dallo SCHOTTMÜLLER (2, 3) e dalla sua scuola (LEHMANN (4)) per un quarto di secolo. Benchè combattuta da varie parti e sopraffatta dalla evidenza contraria dei fatti, questa dottrina ha avuto caldi sostenitori in Germania ed altrove — in Italia ne furono assertori MICHELI (5, 6, 7) e la sua scuola (ANDREI (8)) — e tutt'ora la si deve considerare attuale e viva se nelle due più recenti monografie comparse nei paesi latini sull'endocar-

(*) I termini di endocardite batterica subacuta e di endocardite lenta maligna vengono da noi usati come sinonimi; la denominazione di endocardite lenta maligna viene impiegata prevalentemente in alcuni riferimenti bibliografici per restare fedeli, anche nella terminologia, ai concetti espressi dagli AA. citati.

dite lenta maligna (RINALDI, 1945 (9), PEDRO PONS et al. (10), 1948) gli AA. prendono posizione in suo favore.

Questa questione, che ha diviso gli studiosi dell'eziologia dell'endocardite lenta maligna in unicisti e pluralisti per mezzo secolo, ha avuto, fino a cinque anni fa, un interesse prevalentemente dottrinale. Dal 1944 ha assunto un significato pratico concreto, poichè, da quando l'endocardite lenta maligna è divenuta una malattia curabile attraverso una precisa terapia eziologica, la esatta conoscenza dei batteri causali ha una importanza fondamentale, essendo il presupposto per una razionale condotta curativa.

L'interesse per lo studio degli agenti microbici della endocardite lenta maligna, che pure non si era mai completamente spento, si è pertanto ravvivato in questi ultimi cinque anni. Numerose ricerche sono state condotte in tutti i paesi e i risultati fino ad oggi conseguiti appaiono del più alto interesse. Un aggiornamento del problema attraverso l'esame critico dei più recenti studi e il contributo di ricerche personali e della scuola, alla quale apparteniamo, ci è sembrato pertanto di qualche utilità.

* * *

Prima di esporre i risultati delle ricerche più recenti, riteniamo opportuno di riassumere brevemente gli argomenti, che militano pro e contro la concezione eziologica unicista della endocardite lenta maligna. Sono argomenti che già SCHOTTMÜLLER (2, 3) aveva usato con vivace vigore polemico molti anni fa e che i suoi allievi e i sostenitori della sua dottrina hanno ripreso, di volta in volta fortificandoli con il contributo di osservazioni cliniche e di riprove sperimentali. Sfrondata di ogni ingombrante accessorio il problema può essere posto nei seguenti termini:

La endocardite lenta maligna ha come unico agente patogeno specifico lo *Streptococcus viridans*?

I sostenitori della dottrina unicista rispondono affermativamente a questo quesito. Essi però devono offrire una interpretazione per i casi registrati dalla letteratura, e sono ormai parecchie centinaia, di endocardite lenta maligna sostenuta: a) da streptococchi che non hanno le caratteristiche classiche delle *Str. viridans*; b) da germi i più diversi (stafilococchi, pneumococchi, influenzali, parainfluenzali, enterococchi, brucelle, miceti, ecc.):

a) Per quanto riguarda i reperti di streptococchi diversi dal *viridans*, due sono le opinioni degli unicisti: 1) vi è chi ritiene possibile la trasformazione degli streptococchi viridanti in streptococchi dotati di caratteristiche biologiche diverse; 2) altri negano questa possibilità di trasformazione e considerano i reperti di streptococchi diversi dal viridante o come errori di diagnosi batteriologica, o come inquinamenti secondari delle

colture oppure come infezioni sovrapposte a quella fondamentale da *Str. viridans* tipico. Citatissimo a questo ultimo riguardo è il caso osservato da LEHMANN (4) di un malato sofferente da sette mesi di endocardite lenta maligna con quattro successive emocolture positive per lo *Str. viridans*, il quale, in coincidenza di un improvviso aggravamento, che lo condusse a morte in pochi giorni, presentò l'emocoltura positiva per lo *Str. piogene*. Sarebbe questo un caso di infezione secondaria da *piogene*, sovrapposta a quella da *Str. viridans*.

b) Il reperto di germi diversi dallo *Str. viridans* viene interpretato nei seguenti modi:

- 1) si tratterebbe di inquinamenti;
- 2) sarebbero infezioni secondarie sovrapposte a quelle fondamentali da *viridans*;
- 3) non si tratterebbe di casi di endocardite lenta maligna, ma di casi di endocardite settica subacuta.

Abbiamo voluto riassumere schematicamente i quesiti che sono alla base del problema dell'unicità o pluralità degli agenti microbici della endocardite lenta maligna e le soluzioni per essi proposte, perchè la eliminazione di ogni sovrastruttura speculativa e di un ingombrante bagaglio di dati di osservazione clinica e sperimentale, che dovrebbero venire singolarmente vagliati, perchè risultanti dall'applicazione di tecniche diverse in epoche diverse e più o meno lontane, rende più agevole la comprensione dei termini del problema.

Essi in definitiva così si presentano:

I. O si nega la capacità di una esatta diagnosi batteriologica a tutta una schiera di insigni ricercatori, il che è un arrogarsi un diritto assurdo, o si deve ammettere la possibilità della esistenza, sia pure con frequenza limitata, di forme di endocardite lenta maligna da germi diversi dal tipico *Str. viridans*.

II. Se poi si ritiene che questi casi sostenuti da germi diversi dallo *Str. viridans* non appartengano alla genuina, tipica endocardite lenta maligna, ma alla endocardite settica subacuta, si devono portare convincenti dimostrazioni cliniche che le due forme esistano come entità nosologiche distinte e che ne sia possibile il riconoscimento in base a precisi criteri di diagnosi differenziale.

Questa dimostrazione non risulta che sia stata data.

Vi è stato invece il tentativo (GILBERT-QUERALTO' (10) l.c. pag. 98, 1948) di considerare come malattie distinte le endocarditi da *Str. viridans* e quelle da germi diversi, riservando alle prime la denominazione di endocardite lenta maligna, che viene negata alle seconde, fondando la distinzione pro-

prio sulla diversa eziologia. In questo caso i termini del problema vengono spostati, poichè non si tratta più di definire eziologicamente una sindrome clinica, ma di catalogare le varie possibilità eziologiche con denominazioni convenzionalmente prescelte. Il che non ha alcuna attinenza sostanziale con il problema in discussione.

Se si vuole fare una questione di terminologia si può se mai rilevare che il progresso scientifico ha reso impropria la denominazione proposta da Schottmüller, poichè nella grande maggioranza dei casi la endocardite non è più nè lenta, nè maligna.

Da quanto siamo venuti esponendo ci sembra che non vi siano prove sufficienti per ritenere valida la dottrina della unicità eziologica. Vedremo nelle pagine seguenti che tutte le più recenti acquisizioni costituiscono altrettante prove che fanno ritenere esatta la concezione opposta. Non ci saremmo soffermati a trattare così estesamente questo problema, che nei paesi anglosassoni appare da tempo superato, se non vi fossero manifesti segni nel nostro paese e in altri paesi latini, che fanno ritenere la questione ancora aperta ed attuale (vedi: discussione di MAGRASSI al 46° Congresso di Medicina Interna, 1942, e monografie citate (9, 10), 1945-1948).

* * *

Lo studio degli agenti microbici della endocardite batterica subacuta ha realizzato notevoli progressi nell'ultimo quinquennio.

Le ricerche più importanti si sono svolte nell'ambito del gruppo di germi, che più frequentemente causano la malattia: gli *streptococchi*.

Per maggior chiarezza di esposizione riteniamo pertanto opportuno di suddividere la materia da trattare in due distinti paragrafi:

A) Gli streptococchi dell'e.b.s.

B) I diversi agenti microbici non streptococcici dell'e.b.s.

A) GLI STREPTOCOCCHI DELL'E.B.S.

Le più moderne ricerche in questo campo si sono svolte necessariamente sotto l'influsso dei nuovi criteri di classificazione su base sierologica, oltre che biochimica, del vasto eterogeneo gruppo degli streptococchi. L'opera di GRIFFITH (12-16), della LANCEFIELD (17-27) e la sintesi critica di SHERMAN (28) costituiscono gli elementi basilari degli odierni orientamenti in questo campo.

Tentativi di classificazione degli streptococchi datano dai primordi della batteriologia, ma nessuno di essi ha portato a stabili acquisizioni. D'altra parte accanto agli studi miranti a trovare un filo conduttore, che permettesse di stabilire un ordine nella caotica congerie di dati morfo-

gici, colturali, biochimici, sierologici, relativi agli streptococchi, quasi altrettanto numerose sono state le ricerche che, indicando la esistenza di variazioni di alcuni caratteri ritenuti fondamentali, facevano supporre la trasformazione di una specie di streptococco in una specie affine, rendendo oltremodo problematica la stessa possibilità teorica di una eventuale classificazione degli streptococchi.

Alcune linee direttive si sono però andate affermando e, nonostante che non si sia ancora giunti ad una sistematica definitiva degli streptococchi, è purtuttavia vero che un certo ordine è stato fatto. I tre criteri distintivi fondamentali oggi utilizzati sono: il comportamento degli streptococchi sui terreni al sangue; la attività biochimica su molteplici substrati; la diversità antigenica, che permette di riunire almeno una parte degli streptococchi noti in gruppi e tipi sierologicamente distinguibili. Analizzeremo in maniera sommaria e sotto queste tre diverse visuali le proprietà degli streptococchi allo scopo di poter poi applicare agli streptococchi dell'e.b.s. alcune moderne acquisizioni.

CLASSIFICAZIONE DEGLI STREPTOCOCCHI IN BASE AL LORO COMPORTAMENTO SUI
TERRENI AL SANGUE, ALLE PROPRIETÀ BIOCHIMICHE E ALLA COSTITUZIONE
ANTIGENICA

L'osservazione di MARMOREK (29) (1895) che alcuni streptococchi avevano la capacità di emolizzare i globuli rossi, fu completata e valorizzata dagli studi di SCHOTTMÜLLER (1) (1903) il quale distinse gli streptococchi in due tipi in base alla loro azione sul sangue: lo *Streptococcus haemolyticus* e lo *Streptococcus mitior seu viridans*. Questa distinzione fu il fondamento delle successive classificazioni per molti anni, benchè la attenta analisi del fenomeno dell'emolisi su piastra ad opera degli streptococchi avesse dimostrato (MANDELBAUM, (30) SCHOTTMÜLLER (3)) che anche i viridanti erano dotati di proprietà emolitiche, solo che l'emolisi si verificava in un ristretto alone tutto all'intorno della zona viridante immediatamente contigua al germe.

Nel 1919 apparve una esauriente monografia di BROWN (31) sull'argomento e venne introdotta nella terminologia batteriologica quella distinzione di α - e β - emolisi, che tuttora viene usata per caratterizzare rispettivamente l'azione sul sangue degli streptococchi viridanti e quella degli streptococchi emolitici. Queste caratteristiche azioni degli streptococchi sulle emazie e l'emoglobina, in esse contenuta si possono osservare nel modo migliore insemenzando in massa le piastre e studiando il comportamento delle colonie situate in profondità.

Con questa semplice tecnica è agevole riconoscere il diverso tipo di emolisi.

L' α -emolisi propria degli streptococchi viridanti è caratterizzata da: un alone di colorazione verdastra e di parziale emolisi delle emazie, che

circondano la colonia, del diametro di 1-2 mm., con contorni sfumati; esternamente a questo un secondo ristretto alone, chiaro non decolorato, in cui i globuli rossi sono completamente emolizzati. In qualche caso in cui la 2^a zona, quella di emolisi, non è ancora comparsa dopo 48 ore di incubazione a 37° C., è sufficiente il soggiorno della piastra per una giornata in ghiacciaia perchè il secondo alone rapidamente si sviluppi.

La β -emolisi propria degli streptococchi emolitici, è caratterizzata da un alone chiaro, non decolorato, del diametro di 2-4 mm., con contorni netti, in corrispondenza del quale le emazie sono completamente emolizzate.

La β -emolisi si verifica più rapidamente che l' α -emolisi. Sono sufficienti 18 ore perchè sia bene apprezzabile. Il soggiorno di 24 ore in ghiacciaia non la modifica. E' noto inoltre un altro particolare tipo di emolisi: l' α -emolisi, caratterizzata da: una zona di emolisi, che si differenzia dalla genuina emolisi per le seguenti particolarità: meno chiara, meno netta e, all'esame microscopico, meno completa, perchè numerose emazie nell'ambito della zona di emolisi sono perfettamente integre, specie in vicinanza delle colonie.

Il soggiorno di 24 ore in ghiacciaia determina un sensibile aumento nella estensione della zona emolitica.

Sempre in rapporto al comportamento sui terreni al sangue, si è infine descritto un tipo di streptococchi, i quali hanno la caratteristica di non produrre emolisi sui terreni al sangue. Questi streptococchi vengono anche denominati dagli AA. americani «streptococchi indifferenti». Riepilogando i dati ora esposti e confrontandoli con quelli della nomenclatura di Schottmüller si può stabilire la seguente equivalenza:

Lo *Str. haemolyticus* di SCHOTTMÜLLER = Str. β -emolitico di SMITH e BROWN (32).

Lo *Str. viridans* di SCHOTTMÜLLER = Str. α -emolitico di SMITH e BROWN.

Lo *Str. anhaemolyticus* di SCHOTTMÜLLER = Str. di tipo γ di SMITH e BROWN.

In altri termini l'esame complessivo del comportamento degli streptococchi sui terreni al sangue permette di riconoscere tre gruppi di streptococchi:

1) streptococchi emolitici caratterizzati dalla produzione di β -emolisi. Tra gli streptococchi di questo gruppo sono note però due varianti: una che forma in anaerobiosi colonie β -emolitiche ed un'altra, che forma colonie non emolitiche;

2) streptococchi caratterizzati dalla α -emolisi, cioè viridanti;

3) streptococchi indifferenti, cioè sprovvisti di attività verso il sangue.

Quanto al significato della α -emolisi ancora non si hanno nozioni ben chiare. Deve essere però ricordato il fatto che alcuni ceppi di streptococco, i quali producono emolisi del tipo α' su sangue di cavallo, danno una tipica α -emolisi sul sangue di coniglio. Come si può osservare, la proprietà di produrre α o β -emolisi non è un carattere assolutamente costante, se nell'ambito degli streptococchi emolitici è possibile osservare la insorgenza di varianti emolitiche o viridanti. Di più, esistono prove della possibilità di un identico comportamento verso il sangue da parte di streptococchi profondamente diversi nella loro più intima struttura e composizione chimica; esse ci vengono fornite dall'analisi comparativa del comportamento sui terreni al sangue degli streptococchi definiti e classificati in base alla loro costituzione antigenica.

Sono a tutti ben note le fondamentali ricerche in questo campo di GRIFFITH (12-16) e della LANCEFIELD (17-27) che hanno condotto all'attuale classificazione degli streptococchi emolitici in gruppi e tipi; ci sembra pertanto superfluo di entrare in particolari. Ricorderemo soltanto che i singoli gruppi sono caratterizzati dal comune possesso di un polisaccaride, antigenicamente attivo, diverso per ciascun gruppo (*Polisaccaride C, gruppo specifico*). Nello ambito di ogni gruppo si sono poi differenziati molteplici tipi, definiti in base alla presenza in essi di un antigene di natura proteica, diverso in ciascun tipo (*Proteina « M », tipo specifica*).

In base alla presenza dell'antigene C, LANCEFIELD e HARE (22) classificano gli streptococchi in una serie di gruppi, distinti con le lettere dell'alfabeto da A ad N. Nell'ambito di ciascun gruppo si riconoscono numerosi tipi, contrassegnati con numeri arabi.

Se si confronta l'attività emolitica degli streptococchi con la loro costituzione antigenica, si nota che non esiste un comportamento costante del potere emolitico dei singoli gruppi e tipi. Così se esaminiamo gli streptococchi emolitici del gruppo A, i quali hanno particolare importanza in patologia umana, troviamo che la maggior parte dei ceppi sono β -emolitici, ve ne sono, però alcuni che appaiono β -emolitici solo in anaerobiosi, oppure sono assolutamente sprovvisti di proprietà emolitiche. Nel gruppo B troviamo che poco più della metà di questi streptococchi sono β -emolitici. Nel Gruppo D esiste notevole varietà di comportamento (ERISHMANN (33) 1943). La maggior parte dei ceppi sono anemolitici; ma ne sono stati descritti alcuni che danno α -emolisi.

Ricorderemo infine che gli streptococchi del gruppo N recentemente creato in base alle osservazioni di SEELEMANN e NOTTBOHM (34) (1940), e di altri autori sono sprovvisti di attività emolitica.

Abbiamo voluto riferire piuttosto particolareggiatamente questi esempi per dimostrare più chiaramente la verità della affermazione che non esiste

uno stretto parallelismo tra capacità emolitica e costituzione antigenica degli streptococchi emolitici.

Se poi passiamo a considerare la struttura antigenica degli streptococchi α -emolitici, cioè viridanti, noi ci troviamo nella impossibilità di stabilire una classificazione di questi streptococchi, in base alla loro costituzione antigenica, perchè troppo frammentarie e insufficienti sono ancora al momento attuale le nostre cognizioni in proposito.

A tutto quanto siamo venuti esponendo dobbiamo aggiungere la constatazione che i numerosi vari altri test-biologici, impiegati per la classificazione degli streptococchi, non forniscono risultati di decisiva importanza agli effetti di una esatta classificazione degli streptococchi viridanti. Alcune proprietà biochimiche e fermentative potranno, in singoli casi, essere valorizzate nell'intento di meglio caratterizzare questo o quel ceppo di streptococco viridante, ma nessun criterio di ordine generale da esse finora può trarsi.

Queste premesse forniscono già la risposta alla domanda che dobbiamo porci: è possibile allo stato attuale delle nostre conoscenze formulare una classificazione degli streptococchi viridanti?

Non vi è dubbio che il paziente lavoro di sistematica, che ha dato risultati così importanti nell'ambito degli streptococchi β -emolitici anche per gli streptococchi viridanti potrà in avvenire essere fruttifero ed è opinabile che gli streptococchi viridanti potranno essere ordinati in gruppi e specie distinte.

Ma al momento attuale i caratteri distintivi non sono ancora chiari, nè è stata compiuta quella analisi completa delle proprietà antigeniche e biochimiche dei vari ceppi, che è il presupposto per il loro futuro inquadramento in specie o tipi.

D'altra parte l'antica concezione, derivata dalle ricerche di SCHOTTMÜLLER (1,2,3) sulla endocardite lenta che faceva dello *Str. mitior seu viridans* una specie ben definita, dotata di una specifica, relazione eziologica nei confronti della endocardite lenta maligna non appare più sostenibile. Non soltanto ci sembra insostenibile sulla base dell'esperienza altrui e della nostra personale la dottrina della specificità eziologica, ma ci appare anche assai problematica la possibilità di considerare gli streptococchi viridanti della endocardite batterica subacuta come appartenenti ad una unica specie.

TENTATIVI DI CLASSIFICAZIONE DEGLI STREPTOCOCCHI DELLA ENDOCARDITE BATTERICA SUBACUTA.

In questi ultimi anni si sono intensificati gli studi tendenti a meglio precisare le caratteristiche biologiche degli streptococchi, viridanti o non viridanti, isolati da malati di endocardite batterica subacuta.

E' ancora prematuro voler trarre conclusioni definitive in base alle ricerche fino ad oggi effettuate.

Si tratta di indagini compiute su un numero limitato di ceppi con indirizzo necessariamente analitico.

I dati fino ad ora accertati però confermano pienamente il presupposto, cui si era sopra accennato, che gli streptococchi della e.b.s. costituiscono un gruppo non omogeneo, comprendente diverse specie e varietà e che anche nel gruppo più ristretto ed elettivo degli streptococchi viridanti non esiste un'unica specie caratteristica, causale della e.b.s. Poichè non è possibile riassumere in un quadro sintetico i risultati fino ad ora conseguiti dai vari ricercatori, ci sembra necessario, data la importanza teorica e pratica di questo genere di indagini, di esaminare piuttosto particolareggiatamente i dati, desumibili da alcune ricerche compiute in questi ultimi anni.

Per una migliore comprensione di ciò che verremo dicendo, è necessario premettere pochi cenni riassuntivi sui principali tipi di streptococchi viridanti attualmente noti, per poter poi discutere il problema degli streptococchi viridanti e non viridanti, che è possibile isolare dal sangue di malati di e. b. s.

GLI STREPTOCOCCI VIRIDANTI.

E' difficile al momento attuale decidere se le loro proprietà caratteristiche, che verremo elencando, possano essere assunte come attribuzioni specifiche.

Nel gruppo degli streptococchi viridanti si possono distinguere: a) lo *Streptococcus salivarius*; b) lo *Streptococcus mitis*; c) lo *Streptococcus bovis*; d) lo *Streptococcus equinus*; e) lo *Streptococcus acidominimus*; f) lo *Streptococcus thermophilus*.

a) Lo *Streptococcus salivarius* è un saprofito del cavo orale e dell'intestino. Esso forma brevi catene e su piastre all'agar-sangue dimostra modesto potere viridante. Sviluppa tra 10° e 45° C.

Coagula il latte. Le sue attività biochimiche sono state recentemente studiate da SHERMAN, NIVEN e SMILEY (35), i quali hanno dato il seguente schema: acidifica il brodo glucosato, fino ad un pH finale di 4,0; dal saccarosio e dal raffiniosio forma un polisaccaride solubile e su piastre d'agar contenenti questi zuccheri al 5% forma colonie mucoidi; fermenta il lattosio, il raffiniosio, la salicina; idrolizza l'esculina, ma non l'ippurato di sodio. L'inulina, che era considerata dalla maggior parte degli studiosi come non attaccata dallo *Str. salivarius*, secondo gli AA. americani sopra citati, è anch'essa fermentata.

b) Lo *Str. mitis* è anch'esso un saprofito del cavo orale dell'uomo. Secondo i predetti Sherman e coll. comprende un insieme poco omogeneo di ceppi. Possiede un potere viridante notevole. Non sviluppa a 45° C., non produce acidità fino a pH 4,0 nel brodo glucosato, spesso non coagula il latte, non sintetizza il polisaccaride dal saccarosio e raffiniosio, nè forma colonie mucoidi sull'agar saccarosato al 5%; non fermenta il raffiniosio e l'inulina; non idrolizza l'esculina (con l'eccezione di qualche ceppo), nè l'ippurato di sodio.

I due zuccheri fermentati da questo germe sono: il lattosio e la salicina.

c) Lo *Str. bovis*. - Fin dal 1923 AYERS e MUDGE (36) mostrarono alcuni caratteri differenziali degli streptococchi viridanti dell'intestino dei bovini, che permettevano di distinguerli dai viridanti del cavo orale dell'uomo. Si venne da allora rafforzando il convincimento che a questi streptococchi bovini spettasse un'autonomia specifica e furono designati con il termine *Str. bovis*. Studi più recenti farebbero però rientrare lo *Str. bovis* in un gruppo degli streptococchi emolitici, caratterizzato dal polisaccaride gruppo specifico e formato da varie specie, di cui la principale è costituita dallo *Str. faecalis* o enterococco.

d) Lo *Str. equinus*. - E' stato isolato dall'intestino del cavallo. E' dotato di una buona capacità emolitica. Sviluppa a 45° C. Cresce su agar sangue addizionato di bile al 30%. Non produce polisaccaridi dal raffiniosio e dal saccarosio. Non fermenta il lattosio ed è dubbio se fermenti il raffiniosio. Idrolizza l'esculina, ma non l'ippurato di sodio.

e) Lo *Str. acidominimus*. - Descritto da AYERS e MUDGE (1922) (37), che l'isolarono dal latte e dalle feci di vacca. SMITH e SHERMAN (38) lo hanno pure isolato dalla vagina della vacca. E' decisamente viridante.

Non cresce alle temperature limite di 10° e 45° C. Non modifica il latte tornasolato e non cresce su latte addizionato di bleu di metilene 1:10.000; acidifica debolmente (fino a pH 6,2) il brodo glucosato; fermenta il lattosio e saccarosio, e irregolarmente il mannitolo, non fermenta il raffiniosio e la salicina. Idrolizza l'ippurato di sodio, ma non l'esculina.

f) Lo *Str. termophilus* è così chiamato per la sua capacità di crescita nel latte alla temperatura di 50° C. Resiste anche al calore di 63° C. per mezza ora. Su agar sangue produce colonie non emolitiche ed è pertanto discutibile, se debba essere classificato tra gli streptococchi viridanti. Nel latte tornasolato produce coagulazione con lievissima azione riducente sul tornasole; fermenta il lattosio e il saccarosio, ma non la salicina.

La struttura antigenica degli streptococchi viridanti. - I tipi di streptococchi viridanti ora elencati sono stati differenziati per la massima parte

in base alle caratteristiche morfologiche e colturali e alle loro attività biochimiche.

Uno studio della costituzione antigenica di questi streptococchi ha avuto inizio negli anni più recenti.

Le classificazioni basate sulle caratteristiche colturali e biochimiche degli streptococchi non emolitici hanno gravi difetti, soprattutto a causa del fatto che varie reazioni, che contribuiscono a fissare le caratteristiche differenziali dei diversi tipi, sono poco specifiche e incostanti.

Questa è la ragione per cui, in analogia con quanto è stato fatto per gli Str. emolitici, si stanno compiendo tentativi di classificazione su base sierologica, anche per i viridanti.

Si può per ora ritenere come dimostrato che il gruppo degli streptococchi viridanti non è provvisto del carboidrato « C », gruppo specifico, eccezione fatta per lo *Str. bovis*, il quale possederebbe l'antigene del gruppo D degli Str. emolitici e in questo gruppo pertanto dovrebbe essere classificato.

La tecnica della precipitazione secondo Lancefield applicata allo studio dei viridanti da SOLOWEY (39) (1942), da SHERMAN, NIVEN e SMILEY (35) (1943), da WASHBURN, WHITE e NIVEN (40) (1946), ha chiaramente dimostrato la possibilità di distinguere vari tipi, caratterizzati dalla presenza di un determinato patrimonio antigenico tipo specifico.

SOLOWEY (39) (1942) studiando 108 ceppi di streptococchi isolati da casi di endocardite batterica subacuta e 99 ceppi da gola e denti, trovò che circa i 2/3 di tutti i ceppi potevano venire differenziati in 14 tipi sierologici. Circa la metà dei ceppi di provenienza endocarditica e in egual misura quelli di origine bucco-dentaria rientravano in due dei 14 tipi sierologici. Nessuna costante differenza sierologica fu possibile porre in evidenza tra ceppi di streptococchi di diversa provenienza; nè si dimostrò alcuna precisa correlazione tra le caratteristiche biochimiche e quelle sierologiche dei vari ceppi.

WASHBURN, WHITE e NIVEN (40) (1946) studiando 42 ceppi di un particolare streptococco viridante, lo *Str. sanguis* (o *Streptococcus s.b.e.*), di cui più avanti parleremo estesamente, individuarono due tipi sierologicamente differenziabili con la tecnica delle precipitine.

La prova di agglutinazione non ha dato invece risultati utilizzabili in mano a questi e ad altri AA., poichè nei singoli ceppi di viridanti vi è una molteplicità di antigeni agglutinanti.

Così, ad esempio, mentre è possibile distinguere chiaramente coi sieri precipitanti lo *Str. salivarius* dallo *Str. viridans s.b.e.*, questa differenziazione mediante l'agglutinazione non è più possibile, perchè i sieri specifici antistreptococcici per lo *Str. viridans s.b.e.* agglutinano lo *Str. salivarius* ed anche diversi ceppi di *Str. mitis*.

GLI STREPTOCOCCHI VIRIDANTI DELL'ENDOCARDITE BATTERICA SUBACUTA.

Accertata la esistenza di vari tipi, ancora imperfettamente classificati di streptococchi viridanti, appare evidente che la dizione di *Str. viridans* con il significato di una specie ben determinata di streptococco viridante non è più sostenibile. Dobbiamo ora vedere se, tra i vari streptococchi viridanti, ve ne sia eventualmente una specie capace di provocare la endocardite batterica subacuta. Così infatti si pensava da alcuni fra i sostenitori della specificità eziologica della endocardite lenta maligna.

I dati provenienti dalla letteratura, ai quali le ricerche da noi compiute danno conferma, ci dimostrano che anche nell'ambito degli streptococchi viridanti non esiste una specificità patogenetica nei confronti della e.b.s. Quindi, allo stato attuale delle nostre conoscenze, non soltanto riteniamo che vi sia una pluralità eziologica della e.b.s. nel senso che germi di genere diverso possono essere causa della malattia, ma appare chiaro che anche nell'ambito del gruppo fondamentale di germi, che più di frequente sono causa dell'e.b.s., non esiste una stretta uniformità di caratteri. Col progredire delle ricerche si dimostra sempre più chiaramente comprovata la possibilità della insorgenza della e.b.s. ad opera di streptococchi viridanti sicuramente di tipo, fors'anche di specie diverse.

La più importante nozione emersa dagli studi, compiuti in questi ultimi 4 anni, è quella della esistenza di una nuova varietà di streptococco viridante: lo *Streptococcus sanguis* (o *Streptococcus s.b.e.* di LOEWE).

Questo streptococco, identificato per la prima volta da WHITE (41,42) e dai suoi collaboratori, salvo rarissime eccezioni, è stato isolato solo dal sangue circolante di malati con e.b.s. (WHITE (41) 1944, WHITE e NIVEN (42) 1946; NIVEN e WHITE (43) 1946; LOEWE (44-45) et al., 1946; NIVEN (46) et al., 1946; WASHBURN (40) et al., 1946).

Lo *Streptococcus sanguis* può essere identificato in base alle seguenti caratteristiche biologiche e sierologiche: 1) è viridante e la sua azione sull'agar-sangue si manifesta in 24 ore; 2) idrolizza l'arginina in 48 ore; 3) fermenta l'inulina in una settimana con produzione di acido; 4) non fermenta il raffinose in una settimana; 5) non produce colonie mucose su agar con il 5% di saccarosio; 6) cresce su agar-sangue addizionato del 40% di bile.

Numerose altre caratteristiche fisiologiche sono state pure studiate (vedi tabella 1), ma esse hanno una importanza più limitata agli effetti della

TAB. I.

CARATTERISTICHE FISILOGICHE DELLO STREPTOCOCCUS E. B. S.

Proprietà	Caratteri tipici	Percentuale dei ceppi dotati di caratteri tipici
Potere viridante su agar-sangue	+	98
Crescita a 10° C	—	100
» a 45° C	+	55
» su agar-sangue con bile 40%	+	72
» in cloruro di sodio al 5%	—	100
Forte azione riducente	—	100
P. H. finale in brodo glucosato	4,6 5,0	100
Idrolisi dell'arginina	+	100
» dell'ippurato sodico	—	100
» dell'amido	—	72
Sintesi della sostanza mucosa	+	95
Arabinosio	—	100
Xilosio	—	100
Maltosio	+	100
Lattosio	+	100
Saccarosio	+	100
Trealosio	+	98
Raffinosio	—	67
Inulina	+	81
Glicerolo	—	100
Mannitolo	—	100
Sorbitolo	—	98
Salicina	+	100
Esculina	+	86

differenziazione dello *Streptococcus sanguis* dagli altri Streptococchi viridanti.

Indipendentemente da WHITE e coll. uno streptococco con caratteristiche molto simili a quelle ora riferite per lo *Str. sanguis* è stato descritto nel 1946 da HEHRE e NEILL (47); con ogni verosimiglianza si tratta del medesimo germe.

Tenendo presenti le nozioni precedentemente esposte, relative al gruppo degli streptococchi viridanti, e ai vari tipi in esso descritti, dobbiamo prendere in considerazione come possibili agenti causali della e.b.s. i seguenti viridanti:

1) *Str. salivarius*; 2) *Str. mitis*; 3) *Str. bovis*; ed infine 4) lo *Str. sanguis*.

Questi quattro tipi di streptococchi viridanti sono stati effettivamente individuati nei recenti studi di batteriologia clinica, compiuti da NIVEN e WHITE (43) (1946), da SCHNEIERSON (48) (1948), da ALTURE WERBER e LOEWE (49) (1948).

I risultati conseguiti da questi Aa. sono stati da noi elaborati e riassunti nella tab. II.

TAB. II.

STREPTOCOCCI VIRIDANTI ISOLATI NELLA E.B.S.

A U T O R E	Numero dei casi	Germi isolati nel % dei casi			
		Str. mitis	Str. salivarius	Str. sanguis	Str. bovis
NIVEN E WHITE (1946)	113	39,8	—	37,1	10,6
SCHNEIERSON (1948)	34	—	5,8	26,4	—
ALTURE-WERBER e LOEWE (1948)	56	8,9	—	37,5	8,9

L'esame della Tab. II permette di rilevare due dati di una certa importanza: 1) che tutti i citati ricercatori hanno potuto individuare in percentuali piuttosto elevate, e che possiamo con cifra approssimativa calcolare pari ad un terzo dei casi, lo *Str. sanguis* tra i germi causali dell'e.b.s.; 2) che esiste una discordanza fra i referti di Schneierson e quegli degli altri AA. per quanto riguarda la presenza nella e.b.s. dello *Str. mitis*, dello *Str. salivarius* e dello *Str. bovis*. Lo *Str. salivarius* che figura nel 5,8 per cento dei casi di SCHNEIERSON non compare affatto nelle statistiche di NIVEN e WHITE e di ALTURE-WERBER e LOEWE. Mentre nella classificazione di SCHNEIERSON non figurano lo *Str. mitis* e lo *Str. bovis*.

Questo A. però ha aggiunto nella sua classificazione un gruppo di « Streptococchi non classificati » che probabilmente include alcuni ceppi di *Str. mitis* e un gruppo di « Enterococchi », in cui deve essere compreso lo *Str. bovis*.

Le differenze notate sono pertanto più apparenti che reali e con ogni probabilità dipendono dal diverso criterio di classificazione adottato.

Difficoltà ancora maggiori si incontrano quando si cerchi di definire e classificare il gruppo degli streptococchi *non viridanti* della e.b.s.

GLI STREPTOCOCCI NON VIRIDANTI DELL'E.B.S.

Si tratta di streptococchi sprovvisti della caratteristica emolisi propria della massima parte degli streptococchi isolabili dal sangue di malati di e. b. s.

Costituiscono pertanto una minoranza nell'ambito degli streptococchi dell'e.b.s.

Le premesse da noi fatte, relative al significato dell'azione esercitata sul sangue da parte degli streptococchi in genere, permettono di precisare immediatamente che essi formano un gruppo ancor più eterogeneo di quello dei viridanti.

Nelle più recenti statistiche essi vengono in parte inclusi in una categoria provvisoria di « streptococchi non classificati » o « non identificati » (ALTURE-WEBBER e LOEWE, l.c.; SCHNEIERSON, l.c.; NIVEN e WHITE, l.c.; HERRING e DAVIS (50)).

In altre statistiche pure recenti, in cui il tradizionale criterio di classificazione basata sul tipo di emolisi è ancora conservato, essi figurano in varie percentuali. Così SEABURY (51) (1947) trova nell'1,8 per cento dei casi lo *Str. haemolyticus* e nel 7,6 per cento lo *Str. anhaemolyticus*, HERRING e DAVIS (50) (1948) nel 5,5 per cento lo *Str. pleomorfo* (?).

Il gruppo più importante di streptococchi di questa categoria è probabilmente costituito dall'*enterococco*. Questo germe, descritto da THIERCELIN nel 1899, è variamente denominato (*Enterococcus proteiformis* di THIERCELIN, *Str. ovalis* di ESCHERICH) attualmente è più diffusamente noto con il nome di *Streptococcus faecalis*.

Non staremo a riferire l'insieme di caratteristiche fisiologiche, che permettono di riconoscere questo streptococco, tanto più che dovremo ritornare su questo argomento in altra nota a proposito di un caso personale, in cui lo *Str. faecalis* fu isolato dalle valvole del cuore.

Qui ci limiteremo a sottolineare alcuni dati di notevole importanza derivanti da ricerche degli ultimi anni.

Essi riguardano: 1) La caratterizzazione dello *Str. faecalis* in rapporto alla sua azione sul sangue. Oggi tutti gli AA. sono in perfetto accordo nel ritenere che questa azione è variabile (EHRISMAN (33) (1943).

La maggior parte dei ceppi non esercitano alcuna azione sul sangue e pertanto, se non si tien conto che di questa sola caratteristica, vengono classificati tra gli *Str. anemolitici*.

Un minore numero di ceppi, sicuramente appartenenti allo *Str. faecalis*, hanno invece proprietà viridanti, altri infine possono produrre aree di β -emolisi.

Tutti posseggono il polisaccaride specifico del gruppo D. della LANCEFIELD.

Oltre all'*enterococco*, deve essere preso in considerazione lo *Str. agalactiae*, il quale figura nel 3,5 per cento dei casi di NIVEN e WHITE.

Si tratta di uno streptococco il quale non differisce sostanzialmente per morfologia e caratteri colturali dallo *Str. pyogenes*.

Come per l'*enterococco*, anche per questo Streptococco non è stata notata uniformità di comportamento sui terreni al sangue. Si è osservata la capacità di produrre β -emolisi in proporzioni variabili da 1/3 alla metà dei ceppi studiati.

Dal punto di vista antigenico esso è classificabile nel gruppo B della Lancefield, poichè possiede il polisaccaride specifico di questo gruppo.

Ulteriori ricerche potranno permettere di meglio definire gli Streptococchi non viridanti, isolati dal sangue nella e.b.s. e che per ora non vengono classificati. Così nella più volte citata statistica di NIVEN e WHITE già figura nel 0,8 per cento dei casi uno streptococco del Gruppo G della classificazione LANCEFIELD.

Gli esempi dello *Str. faecalis* e dello *Str. agalactiae* sono stati da noi riferiti allo scopo di documentare l'affermazione, più volte ripetuta, che la uniformità apparente degli streptococchi causali dell'a e.b.s. tanto più si rileverà inconsistente, quanto maggiore sarà l'accuratezza posta nello studio dei ceppi isolati.

LE VARIAZIONI DEI CARATTERI DEGLI STREPTOCOCCHI DELL'E.B.S.

Questo indirizzo di ricerca, secondo noi pienamente giustificato e promettente di nuove interessanti acquisizioni, che aiuta a definire sempre più accuratamente i caratteri differenziali degli streptococchi in genere, e di quelli dell'e.b.s. in particolare, può sembrare seriamente ostacolato dal fatto che i caratteri biologici degli streptococchi possono andar soggetti a variazioni. E' questo un problema di carattere generale, che investe tutti gli streptococchi, emolitici e non emolitici, ed è stato più volte affrontato anche per gli streptococchi dell'e.b.s.

Variazioni nell'aspetto delle colonie degli streptococchi sono note già da molti anni e DAWSON, HOBBS e OLMSTEAD (52) (1938) hanno descritto per lo *Str. pyogenes* le seguenti varietà di colonie: colonie mucoidi, colonie opache, colonie lisce, colonie rugose. In queste ultime la proteina M tipo-specifica non è presente e la sua perdita coincide con una assenza della virulenza per il topo (TODD (53), TODD e LANCEFIELD (54), LANCEFIELD e TODD (19), 1928).

Più interessanti per il tema da noi trattato sono le osservazioni, abbastanza numerose nella letteratura, relative alla comparsa di varianti α -emolitiche o non emolitiche a partire da un ceppo tipico β -emolitico.

La constatazione della esistenza di una possibilità di trasformazione siffatta ha sollevato numerose discussioni già 40 anni fa. Di questo argomento si è occupato ripetutamente lo stesso SCHOTTMÜLLER (2-3), il quale ha sottoposto ad una serrata critica, anche sperimentale, la dottrina della trasformabilità degli streptococchi viridanti in emolitici e viceversa.

Egli negava la esattezza delle ricerche e la attendibilità dei risultati delle esperienze di MORGENROTH (55) (56) (57), le quali miravano a ottenere la trasformazione di *Str.* emolitici in viridanti, mediante la inoculazione in animali.

SCHOTTMÜLLER oppose alla positività di questo tipo di esperimento la obiezione che esso riusciva raramente e che in quei pochi casi, in cui appariva positivo, i viridanti coltivati dagli animali non erano affatto derivati

dagli Str. emolitici precedentemente inoculati. « Im übrigen — egli aggiungeva — ist die Vergrünung eine recht vergängliche Eigenschaft » (Munch. Med. Woch. 71, 1009, 1924).

Riconosciamo che le critiche di SCHOTTMÜLLER sono ben fondate ed esse possono venire estese alla massima parte di questo tipo di esperimenti di « variazione batterica mediante passaggio in animale ».

Le critiche e le riserve, che possono farsi a queste trasformazioni *in vivo*, sono pure in parte estensibili ad alcune osservazioni di variazioni streptococciche nell'uomo malato.

Le osservazioni più numerose riguardano la coltivabilità dal sangue di malati di e.b.s. contemporaneamente o in tempi successivi, dello Str. emolitico e di uno Str. viridante. Non è possibile elevare dubbi e riserve nei confronti di queste osservazioni: la coesistenza di Str. emolitici e viridanti nel sangue di uno stesso malato deve accettarsi come ben documentata almeno per un certo numero di casi. E' la interpretazione di questo fatto, che è tutt'altro che concorde. Alcuni, semplicisticamente invero, lo hanno ritenuto come una prova delle più convincenti della trasformabilità *in vivo* dell'un tipo di streptococco nell'altro.

A questo modo di interpretare i fatti si può facilmente obiettare che la « coesistenza » o la « successione » di due fenomeni non implica necessariamente la derivazione e subordinazione dell'un fenomeno all'altro.

Così è pure per la α - e β -emolisi. Si può pensare, ed effettivamente così deve essere in un ristretto numero di casi, nei quali la comparsa di ceppi β -emolitici è tardiva e precede di poco l'*obitus*, che si tratti di una invasione secondaria di questi germi, i quali pertanto non avrebbero alcun rapporto di derivazione con gli streptococchi α -emolitici che li avevano preceduti. In questo senso viene interpretato il caso, già citato, osservato da Lehmann di endocardite lenta da *Streptococcus viridans* con emocoltura positiva per lo Str. emolitico tre giorni prima del decesso.

E' anche possibile che in qualche rarissimo caso la infezione con due ceppi batterici, uno viridante e l'altro emolitico, possa essere contemporanea. In altri termini il reperto emoculturale di due tipi diversi di Streptococchi in uno stesso malato non è rigorosamente dimostrativo della trasformazione di un tipo batterico nell'altro.

La maggior parte delle osservazioni in questo campo non sono state condotte utilizzando i moderni criteri di classificazione degli streptococchi; non è quindi possibile accertare se, oltre alle proprietà emolitiche, fosse variato tutto il complesso delle proprietà fisiologiche dei ceppi isolati.

Più sicure delle prove *in vivo* sono le ricerche *in vitro*, nelle quali sono minori le cause di errore.

Orbene, le prove *in vitro* dimostrano in maniera indubbia la possibilità

di acquisizione di proprietà viridanti da parte di qualche ceppo di *Str. emolitico*.

Ma proprio queste osservazioni di comparsa di colonie α -emolitiche, cioè viridanti in colture di uno streptococco tipicamente β -emolitico, non autorizzano affatto a parlare di una « mutazione » dello *Streptococcus pyogenes* in uno streptococco viridante o in uno anemolitico. Se di mutazione veramente si trattasse anche le altre proprietà biologiche, oltre quelle dell'azione sul sangue, dovrebbero mutare; ciò invece non si verifica.

Un esempio classico è quello desumibile dalle osservazioni di Todd (1928), il quale ottenne da uno streptococco β -emolitico una variante anemolitica, in coltura aerobia su piastra di agar-sangue.

Se questo stipite anemolitico veniva coltivato in aerobiosi, esso riprendeva completamente le sue proprietà β -emolitiche. La capacità di produrre emolisina, che è una caratteristica fondamentale dello *Str. pyogenes* non andava perduta nella trasformazione in variante anemolitica, ma questa ultima aveva la capacità in presenza di ossigeno di distruggere la propria emolisina ed anche l'emolisina prodotta dal ceppo β -emolitico di partenza.

Osservazioni simili sono state fatte da FRY (58) (1933) il quale ha studiato la comparsa di varianti α -emolitiche in aerobiosi e di varianti β -emolitiche in anaerobiosi.

FULLER e MAXTED (59) (1939) analizzarono le condizioni sperimentali che possono determinare i risultati ottenuti da FRY, dimostrando che la mancanza di β -emolisi in aerobiosi è dovuta alla formazione di perossido, che è più rapida della produzione di emolisina. Se la formazione del perossido viene impedita mediante coltura anaerobia o il perossido prodotto viene subito distrutto per mezzo di catalasi, aggiunta al terreno, si ha la comparsa della tipica β -emolisi.

Osservazioni assai interessanti sono quelle di BIOCCHA (60) (1939), il quale ha potuto studiare un ceppo singolare di streptococco, che coltivato su terreni al sangue, dava ad un tempo colonie con α -emolisi e colonie distinte dalle precedenti con β -emolisi.

Si tratta in questo caso di un reperto di eccezione, così come veramente eccezionale deve ritenersi la presenza di uno streptococco *mobile* nel sangue di un malato di e.b.s., descritta da HUERBACH e FELSENFELD (61) (1948).

In questo caso si trattava di un cocco grampositivo di forma ovoidale, a brevi catenelle, provvisto di un flagello, che gli conferiva la singolare proprietà della mobilità. Solo 16 ceppi di streptococco mobile sono stati descritti in letteratura e tutti appartengono al gruppo dell'enterococco. Anche questo stipite di provenienza endocarditica aveva caratteristiche biochimiche che lo facevano classificare tra gli enterococchi, differendo dallo *Str. faecalis* solo perchè sprovvisto delle facoltà di coagulare il latte.

Recentemente COLEBROOK (62) e coll. (1942) hanno studiato uno strepto-

cocco appartenente al Gruppo A - tipo 12, causa di complicazioni settiche in un reparto chirurgico.

Questo streptococco presentava su agar-sangue una tipica β -emolisi.

In alcuni casi dello stesso reparto venne coltivato da ferite infette uno streptococco, che era privo di proprietà emolitiche tanto in colture aerobie che in anaerobiosi. Questo ceppo anemolitico apparteneva anche esso al Gruppo A, tipo 12.

Questa osservazione ci sembra del più alto interesse in quanto dimostra in modo ben chiaro che uno stipite streptococcico può presentare variazioni per quanto concerne le sue capacità emolitiche, pur restando immutate le sue proprietà fondamentali, che, nell'esempio citato, erano costituite dal carboidrato specifico di gruppo A e della proteina « M » del tipo 12.

Questo e gli altri esempi sopra riferiti possono pertanto far ritenere che esista sicuramente una variabilità nell'ambito delle proprietà emolitiche o viridanti degli streptococchi, ma che queste variazioni non si accompagnino a profonde trasformazioni delle caratteristiche biologiche dei singoli ceppi; non è pertanto giustificato il dedurre che si tratti nei casi riferiti di vere mutazioni di uno *Str. pyogenes* in uno streptococco del gruppo dei viridanti e viceversa. Tanto meno giustificato appare il voler costruire su così fragili basi batteriologiche una dottrina patogenetica delle sepsi lente, intese come affezioni dipendenti da una «immunisatorischen Unwandlung» (KUCZYASKY) e WOLFF (63) 1921) dei germi causali o addirittura una teoria patogenetica generale, che unifichi il genuino reumatismo articolare acuto e la relativa endocardite reumatica con la sepsi lenta maligna endocarditica riducendo l'eziologia di queste malattie ad un comune denominatore streptococcico, mutevole in rapporto con le condizioni immunitarie delle singole forme morbose. Secondo questa dottrina, che ha trovato anche recentemente un fervido sostenitore in GILBERT-QUERALTÒ (l.c., 1948), ma che noi non ci sentiamo autorizzati ad accettare, sarebbero le variazioni dello stato immunitario le quali condizionerebbero la trasformazione dello streptococco emolitico più virulento e supposto agente causale della malattia reumatica in streptococco viridante, meno virulento e agente causale della sepsi lenta maligna endocarditica (GILBERT-QUERALTÒ, l.c., 1948).

* * *

Dall'esame analitico delle caratteristiche biologiche degli streptococchi provenienti dal sangue di malati di e.b.s. si possono trarre alcune conclusioni di carattere generale.

1. — Degli agenti batterici causali dell'e.b.s. gli streptococchi figurano in misura elevata ;

2. — La constatazione dei più antichi ricercatori che gli streptococchi della e.b.s. hanno assai di frequente la proprietà di produrre α -emolisi sui terreni al sangue resta definitivamente confermata; l' α -emolisi però non è carattere costante ed elettivo degli streptococchi dell'e.b.s.

3. — Il termine di *Streptococcus viridans* così largamente usato nella letteratura medica non è indicativo di una determinata specie ed ha pertanto un significato impreciso. Esiste un gruppo di streptococchi viridanti nell'ambito del quale è possibile differenziare varie specie e tipi. Nella e.b.s. gli streptococchi viridanti che possono essere coltivati dal sangue sono: 1) lo *Str. mitis* (Lo *Str. mitior seu viridans* di SCHOTTMÜLLER deve essere considerato sinonimo); 2) lo *Str. salivarius*; 3) Lo *Str. bovis*; 4) Lo *Str. sanguis*.

4. — Altri Streptococchi, facoltativamente dotati delle proprietà di produrre l' α - o la β -emolisi o totalmente sprovvisti di capacità emolitica, sono gli agenti causali di un certo numero di casi di e.b.s. Tra questi streptococchi il più importante è lo *Streptococcus faecalis* appartenente al gruppo degli enterococchi.

La esatta definizione della specie o tipo di streptococco responsabile della e.b.s. nel singolo caso, ha non soltanto un interesse dottrinale, ma anche un riflesso immediato prognostico e terapeutico, come più avanti dimostreremo mediante esempi tratti dalla nostra casistica personale.

* * *

B) GLI AGENTI MICROBICI NON STREPTOCOCCICI DELL'E.B.S.

All'inizio della nostra trattazione abbiamo esposto le ragioni, che fanno ritenere inesatta la dottrina unicista, la quale vorrebbe attribuire all'endocardite lenta maligna una eziologia esclusivamente streptococcica.

In casi i quali avevano tutte le caratteristiche cliniche della e.b.s. è stato possibile isolare più volte germi diversi dallo streptococco.

Escluso che nella maggior parte delle osservazioni altrui e nostre possa trattarsi di un accidentale inquinamento, occorre esaminare quali siano i microbi delle e.b.s. non streptococciche.

Numerosi germi troviamo registrati nella letteratura come possibili agenti eziologici della e.b.s. Alcuni dei referti batteriologici, specie della letteratura meno recente, sono criticabili per il fatto che non esistono le garanzie tecniche indispensabili per assicurare la esclusione di eventuali inquinamenti da germi cutanei o da germi accidentalmente presenti nel torrente circolatorio per una batteriemia fugace e senza alcun significato patologico.

La tecnica dell'emocoltura deve essere applicata correttamente per dare risultati attendibili.

Saranno evitati facili errori osservando due norme fondamentali:

1. — eseguire emocolture ripetute, anche quando una prima emocoltura sia risultata positiva. Questa positività, che potrebbe essere accidentale, acquista un ben definito valore se si riscontra in 2-3 emocolture prelevate ad intervalli successivi di 1-2 giorni;

2. — eseguire le emocolture, oltre che sui terreni liquidi, anche su quelli solidi, in aero ed anaerobiosi.

Se una emocoltura riesce episodicamente positiva solo in terreni liquidi può trattarsi di una batteriemia.

Questi episodi batterioemici senza alcuna conseguenza patologica in persone sane o malate per affezioni diverse dall'e.b.s. sono più frequenti di quanto comunemente non si creda. LICHTMAN e GROSS (64) trovarono streptococchi non emolitici in circa il 6% di p. ricoverati nel Mount Sinai Hospital di New York per malattie diverse dall'e.b.s., ed anche in persone apparentemente sane.

Uno studio esteso a 293 persone in apparente buona salute compiuto nel 1932 da REITH e SQUIER (65) aveva dimostrato lo sviluppo di batteri in 113 su 293 colture. Escluse le positività dovute ad evidenti contaminazioni del terreno di coltura da germi ambientali, restarono 65 emocolture positive per germi di probabile provenienza dal torrente circolatorio. E' questa una cifra assai elevata, che non trova conferma nella nostra quotidiana esperienza di osservazione delle emocolture. Probabilmente i risultati, straordinariamente alti, di positività della emocoltura in soggetti sani, ottenuti dai citati AA., debbono essere almeno in parte dipendenti dalla particolare tecnica da questi usata e dai criteri, piuttosto arbitrari, adottati per giudicare se i germi coltivati fossero di provenienza ematica o da inquinamento ambientale.

Pur con queste riserve, questi studi fanno intravedere la possibilità di avere reperti emocolturali positivi, ai quali non spetta alcun valore e significato, se non quello di obbligarci ad usare una estrema cautela nel valutare i risultati delle emocolture.

Quando un germe viene coltivato *ripetutamente*, su *terreni solidi* oltre che liquidi, e con *un numero notevole* di elementi microbici per centimetro cubo di sangue, si deve attribuire al reperto emocolturale la massima importanza.

Le tre condizioni ora menzionate offrono una garanzia quasi assoluta che il germe isolato non sia un reperto accidentale da batteriemia transitoria.

Questa sarà inoltre poco probabile, quando dal sangue si coltivi un germe strettamente patogeno, quale ad es. una brucella, una salmonella ecc.

Questi microbi, abitualmente virulenti, sono però i più rari fra gli

agenti batterici causali della e.b.s., nella cui biologia prevalgono invece germi dotati, come gli streptococchi viridanti, di scarsa virulenza.

Si tratta di microrganismi che è facile ritrovare in condizioni normali, allo stato saprofitario, a livello delle mucose delle cavità naturali dell'organismo umano o della cute. Per questi germi la possibilità di batteriemie transitorie, accidentali, senza significare patogeno deve essere sempre tenuta presente.

Tra questi saprofiti ricordiamo anzitutto quelli del cavo orale e precisamente oltre gli streptococchi dei quali abbiamo estesamente già parlato, varie specie del genere *Neisseria*, quali la *Neisseria catarrhalis*, la *Neisseria sicca*, la *Neisseria flava*, il *Diplococcus crassus* e il *Diplococcus mucosus*. Oltre a questi germi dotati di scarsissima virulenza e che in vari casi sono stati coltivati dal sangue nell'e.b.s. - le due specie patogene del genere *Neisseria* e cioè la *Neisseria Gonorrhoeae* o Gonococco e la *Neisseria meningitidis* o meningococco possono pure causare endocarditi subacute.

Più frequenti però sono le endocarditi acute ulcerose sostenute da questi due cocci.

Tra i germi, che hanno il loro habitat naturale sulla mucosa delle vie respiratorie e che possono essere causa di e.b.s. ricordiamo anche la *Gaffkya tetragena*.

Corinebatteri sono stati più volte trovati in casi di e.b.s.; difficile è dare un giudizio sulla loro effettiva patogenicità. Debiamo per altro ricordare che il reperto di forme corinebatteriche non deve *ipso-facto* farci diagnosticare una infezione da germi del genere *Corynebacterium*, poichè anche batteri di altri generi possono occasionalmente assumere una morfologia corinebatterica. Tale è il caso di vari ceppi streptococcici, due dei quali furono studiati da JENSEN e MORTON (66) (1931) che poterono dimostrare che si trattava di streptococchi non emolitici.

L'*Actinobacterium Israeli*, che pure può essere causa di endocardite lenta (ALESTRA e GIROLAMI) (67) assume anch'esso dopo pochi passaggi in terreni liquidi una morfologia corinebatterica.

A parte tutti questi germi, che siamo venuti citando, e numerosi altri ancora quali il bacillo di *Döderlein*, il *Bacillus necrophorus*, lo *Streptobacillus moniliformis*, batteri del genere *Erysipelotrix*, cocci del genere *Veillonella*, Brucelle, bacilli anaerobi del genere *Clostridium*, Spirilli quale lo *Spirillum suratis*, spirochete come la *Borrelia vincenti*, Miceti (Monilie, Nocardie), quali rappresentano agenti microbici dell'e.b.s. di assoluta eccezione - altri germi più comuni e pertanto praticamente più importanti occorre prendere in considerazione. Intendiamo riferirci agli stafilococchi, pneumococchi e agli agenti influenzali e parainflenzali.

Gli stafilococchi, aureo ed albo, sono stati isolati con frequenza assai varia dai singoli ricercatori. Essi compaiono in alcune statistiche recenti

(SEABURY (51) 1947; PRIEST, SMITH e MAC GEE (68) 1947; ALTURE WEBER e LOEWE, (l.c.) 1948). Figurano anche nella casistica della Clinica Medica di Roma sulla quale più avanti riferiremo. MAGRASSI (69.70) ne ha ampiamente trattato. Altri AA. invece hanno avuto occasione di coltivarli primitivamente da casi di e.b.s. Valga come esempio quello del più autorevole fra tutti gli studiosi dell'e.b.s. il LIBMAN il quale nel 1941 scriveva di non aver « confirmatory experience » nei confronti dell'eziologia stafilococcica dell'e.b.s. Questo A. riferisce però di aver osservato l'infezione stafilococcica secondaria delle valvole, già lese da una localizzazione streptococcica primitiva.

Lo pneumococco è stato isolato da VAQUEZ (72), da CURSCHMANN (73), tra gli Aa. più antichi, e figura nell'1,7% dei casi della più recente statistica di ALTURE-WEBER e LOEWE, (l.c.).

Anche per questo germe, come pure per lo Stafilococco, esiste la possibilità che la sua presenza sia dovuta ad infezione mista. Si tratta allora di una batteriemia secondaria in corso di polmonite, complicante un'e.b.s. di eziologia streptococcica.

Gli emofili influenzali e parainflenzali sono stati più volte descritti come germi causali nella e.b.s. Già il LIBMANN (71) riferiva che nella sua statistica personale, gli emofili influenzali figuravano nel 5% circa dei casi di e.b.s. In una recente revisione della letteratura MAC GEE e PRIEST (74) (1948) ricordano 39 casi di e.b.s. da *Hemophilus* registrati nella letteratura e 1 caso di pervietà del dotto arterioso di Botallo con infezione da *H. influenzae* atipico.

Se si pon mente che questi dati numerici si riferiscono solo ai casi fatti oggetto di pubblicazione, e riguardano prevalentemente quelli della letteratura anglosassone, è evidente che la e.b.s. da emofili, ancorchè non sia frequente, non costituisce pur tuttavia una eventualità eccezionale. Anche nella casistica della nostra clinica questo germe è stato isolato da SCALFI (75).

A conclusione di questa nostra rassegna necessariamente sommaria, dei principali microbi, che possono essere causa delle e.b.s., riportiamo in forma di tabella (vedi tab. III) i reperti batteriologici ottenuti nella e.b.s. da diversi Aa. e resi noti negli ultimi due anni.

Il complesso di ricerche, di cui abbiamo esposto i principali risultati, mentre da un lato offre la chiara dimostrazione della plurità degli agenti microbici dell'endocardite batterica subacuta, dall'altro rende sempre più attuale il problema della definizione dei fattori che convogliano l'azione patogena di questi microbi così diversi verso una risultante anatomoclinica unitaria: la sindrome dell'endocardite batterica subacuta.

Deliberatamente ci asteniamo dall'entrare nella discussione delle varie ipotesi che vorrebbero fornire la soluzione del problema eziopatogenetico, ma non possiamo tacere di un complesso di ricerche, le quali, nate dall'osser-

AUTORI	HERRING e DAVIS (1948)	ALTURE WERBER e LOEWE (1948)	PRIEST, SMITH, MAC GEE (1947)	SCHNEIERSON (1948)	NIVEN E WHITE (1946)	SEABURY (1947)
G e r m i	N. dei ceppi	18	56	34	113	157
	Str. viridans 88,8%	Str. mitis 8,9%	Str. viridans 70,5%	Str. salivarius 5,8%	Str. mitis 39,8%	Str. viridans (alpha) 80,2%
	Str. pleomorfo 5,5%	Str. sanguis 37,5%	Str. haemolyticus 8,8%	Str. s.b.e. 26,40%	Str. s.b.e. 37,1%	Str. haemolyticus (beta) 1,9%
	Str. non differenziati 5,5%	Str. bovis 8,9%	Str. anemolitici (gamma) 5,8%	Gruppo dell'enterococco 5,8%	Str. bovis 10,6%	Str. anhemolyticus (gamma) 7,6%
		Str. faecalis 1,7%	Staph. aureus 5,8%	Str. non classificati 61,7%	Str. faecalis 4,4%	Cocchi Grampositivi in catenelle 1,9% 1,9%
		Str. non identificati 17,8%	Staph. albus 2,9%		Str. agalactine 3,5%	Gaffkya tetragera 0,6%
		Staph. aureus 1,7%	Streptobacillus moniliformis 2,9%		Gruppo G di Lancefield 0,8%	Batteri gramnegativi pleomorfi 0,6%
		Pneumococcus 1,7%	Hemophilus Parainfluenzae 2,9%		Non classificati 3,5%	Staph. albus 0,60%
		Veillonella gazogenes 1,7%				Staph. aureus 0,6%
		Spirochaeta vincenti 1,7%				Br. abortus 0,6%
		Erysipelothrix 1,7%				Clostridium 0,6%
		Eziologia indeterminata 16%				Negativi ma positivi all'autopsia 4,5%

vazione di un fenomeno batteriologico in apparenza di poco rilievo, potrebbero condurre ad una impostazione del tutto originale e nuova della eziopatogenesi dell'e.b.s.

Dallo studio delle proprietà biologiche di due ceppi di stafilococco aureo isolati da due casi di e.b.s., MAGRASSI (70) è stato indotto a prospettare la possibilità che nelle endocarditi lente esista « indipendentemente dai diversi agenti batterici, che conferiscono loro il carattere di sepsi ad apparente plurima eziologia, un denominatore comune rappresentato da un fattore virus-simile ».

Ad esso il MAGRASSI ha attribuito la denominazione di « batteriostato », per fissare, nell'attribuzione della sua particolare individualità biologica, l'unico fenomeno che è capace di rivelarcene in vitro la presenza: tale fenomeno infatti si traduce in un profondo vizio nella funzione moltiplicativa dello stafilococco, che impedisce totalmente o parzialmente lo sviluppo del germe in condizioni culturali perfettamente atte alla crescita dello stafilococco normale. MAGRASSI (76), SCALFI (77), SCALFI e PERISSI (78), hanno condotto una serie di ricerche allo scopo di definire le caratteristiche biologiche del « batteriostato ».

Ai loro lavori rimandiamo chi voglia approfondire l'argomento.

Qui ci limiteremo a ricordare che il MAGRASSI ha potuto osservare che « i germi più diversi, provenienti dall'endocardite lenta, possono presentarsi portatori di batteriostato, che a loro viene conferito dall'organismo nel quale affiorano e che essi sono capaci di rivelare chiaramente solo nel caso particolare dello stafilococco, attraverso la caratteristica inibizione moltiplicativa in questo indotta dal batteriostato stesso... ».

In altri termini, secondo il MAGRASSI, esiste nella e.b.s. un elemento virus-simile, presente nel sangue e nei tessuti, capace di legarsi ai germi dei quali non modificherebbero in maniera dimostrabile le caratteristiche biologiche, eccezion fatta per lo stafilococco. Questo germe infatti, una volta che s'ia divenuto portatore di batteriostato, presenta una anormalità delle sue caratteristiche culturali; esso pertanto può venire impiegato come test rivelatore della presenza del « batteriostato ».

Questi sono i dati stabiliti da Magrassi attraverso una laboriosa serie di indagini.

Il significato, che potrà essere attribuito al « batteriostato » in rapporto con la eziopatogenesi della e.b.s. non è ancora chiarito.

Nel quadro generale delle più moderne ricerche sugli agenti microbici dell'e.b.s., che siamo venuti tracciando, ad esso spetta un posto preminente, poichè le ipotesi di lavoro, che possono essere formulate come guida allo studio delle sue proprietà *in vitro* e soprattutto *in vivo*, investono tutta la eziopatogenesi della e.b.s.

CONCLUSIONI

A conclusione di questa rassegna critica, per necessità sommaria, dei risultati conseguiti in mezzo secolo di ricerche batteriologiche sulla endocardite batterica subacuta, noi possiamo:

1. — fissare alcuni dati che costituiscono acquisizioni ormai definitive;
2. — richiamare l'attenzione sul significato non soltanto teorico e dottrinale ma anche clinico-pratico prognostico e terapeutico delle ricerche di batteriologia clinica nella e.b.s.;
3. — precisare le attuali direttive della ricerca scientifica in questo settore.

1. — Per quanto concerne le acquisizioni da ritenersi definitive si può affermare che:

a) E' universalmente riconosciuta la enorme prevalenza fra gli agenti microbici della e.b.s. di streptococchi, dotati di virulenza attenuata, appartenenti per la massima parte al gruppo degli streptococchi viridanti.

b) Esistono prove sufficienti per ritenere ormai insostenibile la dottrina unicista, che vorrebbe attribuire ad una unica specie streptococcica, lo *Str. viridans*, una specificità eziologica e una individualità batteriologica.

c) Si deve riconoscere una pluralità eziologica della e.b.s., la quale pertanto ci appare come una sindrome unitaria sotto il profilo anatomico-clinico, ma ad eziologia batterica varia;

d) Gli agenti microbici dell'e.b.s. non soltanto appartengono ad ordini diversi, ma anche nell'ambito del genere *Streptococcus* esiste una pluralità di specie, in parte ancora non definitivamente classificate, che possono essere causa dell'e.b.s.

2. — Le ricerche batteriologiche, da noi riferite, sono strettamente collegate con importanti problemi che riguardano la diagnosi, la prognosi, e la terapia dell'e.b.s.

a) Per la diagnosi: la controprova batteriologica della esattezza del giudizio clinico è stata sempre di importanza fondamentale, ma lo è divenuta ancor più dal momento in cui, possedendo una terapia eziologica realmente efficace il clinico deve formulare non soltanto una diagnosi generica di e.b.s. ma anche una diagnosi eziologicamente esatta, sulla cui base indirizzare la scelta della terapia.

b) Per la prognosi: la individuazione di determinati agenti microbici potrà avere un peso prognostico non indifferente in base alla nozione, empiricamente acquisita, della loro maggiore o minore resistenza *in vivo* al trattamento curativo (come accade per lo *Str. sanguis*) o in funzione della

resistenza *in vitro* più o meno elevata verso gli antibiotici attualmente in nostro possesso (ceppi penicillino, streptomycin, ecc. resistenti).

c) Per la cura: la identificazione del germe causale e la determinazione del suo comportamento *in vitro* rispetto agli antibiotici costituisce la premessa per una terapia razionale.

3. — I più recenti studi sulla e.b.s., di cui abbiamo dato notizia, sono indirizzati verso una precisazione sempre più completa ed esatta delle caratteristiche biologiche degli agenti microbici dell'e.b.s.

Difficoltà notevoli debbono essere ancora superate, specie nella definizione degli streptococchi causali dell'e.b.s.

E' auspicabile che si giunga ad una uniformità nella scelta dei testi biologici idonei per differenziare e classificare i diversi stipti isolati.

Questa possibilità è però piuttosto lontana da una concreta attuazione, perchè troppo frammentarie e incerte sono ancora le nostre cognizioni.

Ad una fase di estrema semplificazione del problema batteriologico dell'e.b.s., è subentrata una fase di grande complicazione e, diciamolo pure, di notevole confusione. E' pertanto comprensibile che taluno assuma un atteggiamento di prudentiale riserbo di fronte agli attuali tentativi di portare ordine nel caotico mondo degli streptococchi.

A noi sembra che non si debba confondere il significato e il fine del problema posto e che si vuol risolvere, con la insufficienza e incapacità transitoria di attribuire ai fatti un preciso significato e di conseguire una definitiva soluzione.

Nella fase di analisi iniziale tutti i problemi si presentano confusi ed incerti; per questo appunto mette conto di approfondirne lo studio.

Roma - Clinica Medica dell'Università e Istituto Superiore di Sanità.

B I B L I O G R A F I A

- (1) SCHOTTMÜLLER H., Die Artunterscheidung der für Menschen pathogenen Streptokokken durch Blutagar - Münch. Med. Wschr. - 50, 849 1903; 50, 909, 1903.
- (2) SCHOTTMÜLLER H., Endocarditis lenta - Zugleich ein Beitrag zur Artunterscheidung der pathogenen Streptokokken - Münch. Med. Wschr. - 57, 617, 1910; 57, 697, 1910.
- (3) SCHOTTMÜLLER H., Ueber die Artverschiedenheit der Streptokokken - Münch. Med. Wschr. - 71, 1009, 1924.
- (4) LEHMANN M., Klinische und Bakteriologische Erfahrungen bei Endocarditis lenta - Klin. Wschr. - 31, 1408, 1926.
- (5) MICHELI F. « Endocardite lenta » - Lezioni cliniche - Ed. Minerva Medica - Torino 1923.
- (6) MICHELI F., Endocardite lenta - Minerva Medica 18, 619, 1923.
- (7) MICHELI F., Endocardite lenta; anemia a tipo emolitico - glomerulo nefrite diffusa. - Minerva Medica 17, 660, 1924.
- (8) ANDREI G., L'eziologia della endocardite lenta e l'individualità batteriologica dello « Streptococcus viridans » - Arch. Scienze Med. 52, 369, 1928.
- (9) RINALDI M., L'endocardite lenta - Ediz. R. Pironti - Napoli, 1945.
- (10) PONS P., GILBERT-QUERALTÓ J., FARRERAS VALENTI P., CISCAR RIUS F., Patologia y clinica de la endocarditis lenta maligna - Salvat Ediz. - Barcellona, 1948.
- (11) MAGRASSI F., Studi sulle endocarditi lente: isolamento e significato del fattore virus-simile denominato « batteriostato » - Boll. Ist. Sier. Mil. - 23, 189, 1944.
- (12) GRIFFITH F., Types of haemolytic streptococci in relation to scarlet fever - J. Hyg, Camb, 25, 385, 1926.
- (13) GRIFFITH F., Types of haemolytic streptococci in relation to scarlet fever (second report) - J. Hyg, Camb, 25, 363, 1927.
- (14) GRIFFITH F., The significance of pneumococcal types - J. Hyg, Camb. 27, 113, 1928.
- (15) GRIFFITH F., The serological classification of streptococcus pyogenes - J. Hyg, Camb. 34, 542, 1934.
- (16) GRIFFITH F., The Aronson streptococcus - J. Hyg, Camb. 35, 23, 1935.
- (17) LANCEFIELD R. C., The immunological relationship of streptococcus viridans and certain of its chemical fractions. Serological reactions obtained with nucleo-protein sera - J. Exp. Med. 42, 377, 1925.
- (18) LANCEFIELD R. C., The Antigenic complex of streptococcus hemolyticus J. Exp. Med. - 47, 91, 1928; 47, 469, 1928; 47, 481, 1928; 47, 843, 1928; 47, 857, 1928.
- (19) LANCEFIELD R. C., TODD E. W., Antigenic differences between matt hemolytic streptococci and their glossy variants - J. Exp. Med. 48, 769, 1928.
- (20) LANCEFIELD R. C., A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci - J. Exp. Med. 57, 571, 1933.
- (21) LANCEFIELD R. C., A serological differentiation of specific types of bovine hemolytic streptococci (group B.) - J. Exp. Med. 59, 441, 1934.
- (22) LANCEFIELD R. C., HARE R., The serological differentiation of pathogenic and non pathogenic strains of hemolytic streptococci from parturient women - J. Exp. Med. 61, 335, 1935.
- (23) LANCEFIELD R. C., Two serological types of group B hemolytic streptococci with related, but not identical, type specific substances - J. Exp. Med. 67, 25, 1938.
- (24) LANCEFIELD R. C., The specific antigens, M and T, of matt and glossy variants of group A hemolytic streptococci. The significance of H and T antigens in the cross

reactions between certain types of group A hemolytic streptococci - J. Exp. Med. 71, 521, 1940; 71, 539, 1940.

(25) LANCEFIELD R. C., Specific relationship of cell composition to biological activity of hemolytic streptococci - Harvey Lectures, Ser. 36, 251, 1949.

(26) LANCEFIELD R. C., Studies of the antigenic composition of group A hemolytic streptococci - J. Exp. Med. 78, 465, 1943.

(27) LANCEFIELD R. C., STEWART W. A., Studies on the antigenic composition of group A hemolytic streptococci - J. Exp. Med. 79, 79, 1944.

(28) SHERMAN J. M., The streptococci - Bact. Rev. 1, 3, 1937.

(29) MARMORECK A., Le streptocoque et le sérum antistreptococcique - Ann. Inst. Pasteur 9, 593, 1895.

(30) MANDELBAUM M., Zur Streptokokkenfrage von.. - Z. Hyg. Infektkr. 58, 26, 1908.

(31) BROWN J. H., Monogr. Rockefeller Inst. med. Res, n. 9, 1919.

(32) SMITH T., BROWN J. H., J. Med. Res - 31, 455, 1915 - citato in Brown, J. H.: Monogr. Rockefeller Inst. Med. Res., n. 9, 1919.

(33) EHRLSMANN O., Zur serologischen Diagnostik der Streptokokken des Magendarm Kanals beim Menschen - Arch. f. Hyg. 129, 116, 1943.

(34) SEELEMANN M., NOTTBOHM H., Untersuchungen über die Unterscheidung des Str. lactis von den « Enterokokken » - Zbl. Bakt. 146, 142, 1940.

(35) SHERMAN J. M., NIVEN C. F. JR., SMILEY K. L., *Streptococcus salivarius* and other non-hemolytic streptococci of the human throat - J. Bact. 45, 249, 1943.

(36) AYERS S. H., MUDGE C. S., Streptococci of feces and mouth of cows the streptococci of the bovine - J. Infect. Dis. 33, 155, 1923.

(37) AYERS S. H., MUDGE C. S., The streptococci of the bovine udder. - J. Infect. Dis. 31, 40, 1922.

(38) SMITH F. R., SHERMAN J. M., *Streptococcus Acidominimus* - J. Infect. Dis. 65, 301, 1939.

(39) SOLOWEY M., A serological classification of viridans streptococcus with special reference to those isolated from subacute bacterial endocarditis - J. Exp. Med. 76, 109, 1942.

(40) WASHBURN M. R., WHITE J. C., NIVEN C. F. JR., *Streptococcus s.b.e.*, immunological characteristics - J. Bact. 51, 723, 1946.

(41) WHITE J. C., Streptococci from subacute bacterial endocarditis - Cornell Univ., Abstracts of Theses, 195, 1944.

(42) WHITE J. C., NIVEN C. F. JR., *Streptococcus s.b.e.*: a streptococcus associated with subacute bacterial endocarditis - J. Bact 51, 717, 1946.

(43) NIVEN C. F. JR., WHITE J. C., A study of streptococci associated with subacute bacterial endocarditis - J. Bact. 51, 790, 1946.

(44) LOEWE L., ALTURE-WERBER E., The clinical manifestations of subacute bacterial endocarditis caused by *Streptococcus s.b.e.* - Am. J. Med. 1, 353, 1946.

(45) LOEWE L., PLUMMER N., NIVEN C. F. JR., SHERMAN J. M., *Streptococcus s.b.e.* endocarditis - J.A.M.A. 130, 257, 1946.

(46) NIVEN C. F. JR., KIZIUTA Z., WHITE J. C., Synthesis of a polysaccharide from sucrose by streptococcus s.b.e. - J. Bact. 51, 711, 1946.

(47) HEHRE E. J., NEILL J. M., Formation of serologically reactive dextrans by streptococci from subacute bacterial endocarditis - J. Exp. Med. 83, 147, 1946.

(48) SCHNEIERSON S., Serological and biological characteristics and penicillin resistance of nonhemolytic streptococci isolated from subacute bacterial endocarditis - J. Bact. 55, 393, 1948.

(49) ALTURE-WERBER E., LOEWE L., Prophylactic immunization against *Streptococcus sanguis* - J. Bact. 56, 391, 1948.

- (50) HERRING A. C., DAVIS W. M., Penicillin treatment of subacute bacterial endocarditis - J.A.M.A. 138, 726, 1948.
- (51) SEABURY J. H., Subacute bacterial endocarditis: experiences during the past decade - Arch. Int. Med. 79, 1, 1947.
- (52) DAWSON M. H., HOBBY G. L., OLMESTEAD M., Variation in the hemolytic streptococci - J. Inf. Dis. 62, 138, 1938.
- (53) TODD E. W., The conversion of hemolytic streptococci to non-hemolytic forms - J. Exp. Med. 48, 493, 1928.
- (54) TODD E. W., LANCEFIELD R. C., Variants of hemolytic streptococci; their relation to type-specific substance, virulence, and toxin - J. Exp. Med. 48, 751, 1928.
- (55) MORGENROTH J., Ueber chemotherapeutische Antisepsis und Zustandsänderung der Streptokokken - Zeitschr. f. Immunitätsf. 43, 209, 1925.
- (56) MORGENROTH J., BIBERSTEIN U., SCHNITZER R., Die Depressionsimmunitätsstudien über Superinfektion mit Streptokokken - D. Med. Wschr. 46, 337, 1920.
- (57) MORGENROTH J., SCHNITZER R., BERGER E., Über die Einheit der Streptokokken und Pneumokokken - Zeitschr. f. Immunitätsf. 43, 169, 1925.
- (58) FRY R. M., Anaerobic methods for identification of haemolytic streptococci - J. Path. & Bact. 37, 337, 1933.
- (59) FULLER A. T., MAXTED, W. R., The production of haemolysin and peroxide by haemolytic streptococci in relation to the non-haemolytic variants of group A. - J. Path. & Bact. 49, 83, 1939.
- (60) BIOCICA E., Ricerche su uno streptococco viridante ed emolitico - Batteriologia 23, 701, 1939.
- (61) HAUERBACH H., FELSENFELD O., An unusual strain of streptococcus isolated from subacute bacterial endocarditis - J. Bact. 56, 587, 1948.
- (62) COLEBROOCK L., ELLIOTT S. D., MAXTED W. R., MORLEY C. W., MORTELL M., Infection by non-haemolytic group A. streptococci - Lancet 2, 30, 1942.
- (63) KUCZYASKI M. H., WOLFF - Weitere Untersuchungen über den streptococcus viridans - Zeitschr. f. Hyg. 92, 119, 1921.
- (64) LICHTMANN G. G., GROSS L., Streptococci in the blood in rheumatic fever, rheumathoid arthritis and other diseases - Arch. int. Med. 49, 1078, 1932.
- (65) REITH A. F., SQUIER Th. L., Blood cultures in apparently healthy persons - J. Inf. Dis. 51, 336, 1932.
- (66) JENSEN L. B., MORTON H. B., The diphteroid phase of streptococci - J. Inf. Dis. 49, 425, 1931.
- (67) ALESTRA M., GIROLAMI M., Endocarditi da nocardie - Il Policlinico, Sez. Medica, 44, 441, 1937.
- (68) PRIEST W. S., SMITH J. M., MC GEE CH. J., Penicillin therapy of subacute bacterial endocarditis. A study of the end results in thirty-four cases, with particular reference to dosage, methods of administration, criteria for judging adequacy of treatment and probable reasons for failures - Arch. Int. Med. 79, 333, 1947.
- (69) MAGRASSI F., Su un caso di endocardite lenta da stafilococco aureo: singolari proprietà biologiche del germe isolato - Boll. e Atti Acc. Med. di Roma 66, 146, 1940.
- (70) MAGRASSI F., Su due casi di endocardite lenta da stafilococco aureo: costanza delle particolari caratteristiche biologiche constatate nei ceppi stafilococcici isolati - Boll. Atti Acc. Medica di Roma 68, 89, 1945.
- (71) LIBMAN E., FRIEDBERG CH. K., Subacute bacterial endocarditis - Oxford University Press, New York, 1941.
- (72) VAQUEZ H., Endocarditis malignes a forme prolongée - Bull. Soc. Hôpit. 1947 citato da LEVI M., L'endocardite da pneumococco, Lo Sperimentale 87, 609, 1934.

(73) CURSCHMANN H., Ueber Endocarditis chronica (lenta) Münch. Med. Wschr. 69, 419, 1922.

(74) MAC GEE C. J., PRIEST W. S., Subacute bacterial endocarditis due to *Hemophilus parainfluenzal* - J.A.M.A. 137, 1315, 1948.

(75) RITA G., SCALFI L., Studio microbiologico di un caso di endocardite lenta da *Haemophilus para-influenzae* - Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 20, 849, 1945.

(76) MAGRASSI F., Studi su un fattore ad azione autobatteriostatica presente in alcuni ceppi stafilococchi - Atti R. Acc. d'Italia - Mem. Cl. Scienze Fis. Mat. e Nat. 13, 1061, 1942.

(77) SCALFI L., Contributo allo studio di alcuni particolari ceppi stafilococchi presentanti uno spontaneo fenomeno di batteriostasi (Nota I) - Boll. Istituto Sier. Mil. 21, 67, 1942.

(78) SCALFI L., PERISSI E., Contributo allo studio di alcuni particolari ceppi stafilococchi presentanti uno spontaneo fenomeno di batteriostasi (Nota II) - Boll. Ist. Sier. Mil. 21, 249, 1942.
