

85. Franco SORICE. — Sulla azione di risparmio di alcuni antibiotici nei confronti della vitamina B₁₂.

Riassunto. — L'A. ha seguito l'andamento del peso corporeo, del numero dei globuli rossi e bianchi e del valore dell'emoglobina in 67 giovani ratti albinici in accrescimento alimentati con una dieta sintetica completa contenente 100 gamma di vitamina B₁₂ pro kilo di dieta, con la stessa dieta priva di tale vitamina e dell'acido folico, con la stessa dieta priva di vitamina B₁₂ e acido folico addizionata rispettivamente dello 0,05% di aureomicina o di penicillina.

Gli animali alimentati con la dieta completa hanno presentato un modico aumento, statisticamente significativo, dell'accrescimento ponderale nei confronti di quelli che ricevevano la stessa dieta priva di vitamina B₁₂ e acido folico. Non sono invece state notate differenze di accrescimento statisticamente significative fra gli animali a dieta carente e quelli a dieta carente addizionata degli antibiotici. L'andamento del numero dei globuli rossi e bianchi e del valore dell'emoglobina non hanno presentato variazioni degne di nota fra i vari lotti di animali.

Résumé. — L'auteur a suivi les variations du poids corporel, du nombre des globules rouges et blancs et de la valeur de l'hémoglobine chez 67 jeunes rats albinos en période de croissance, nourris avec une diète synthétique contenant 100 γ de vitamine B₁₂ par kg. d'aliment, avec la même diète carante de cette vitamine et de l'acide folique, avec la même diète carante à laquelle 0,05% d'aureomycine ou de pénicilline est respectivement ajouté.

Les animaux nourris avec la diète complète ont montré une augmentation moyenne, statistiquement significative, de l'accroissement en poids par rapport à ceux qui recevaient la même diète carante de vitamine B₁₂ et d'acide folique. Au contraire on n'a pas noté de différences, statistiquement significatives, dans la croissance entre les animaux à diète carante et ceux à diète carante à laquelle on avait ajouté les antibiotiques. Le nombre des globules rouges et blancs et la valeur de l'hémoglobine n'ont pas présenté de variations appréciables dans les différents groupes d'animaux.

Summary. — The author followed the development of physical weight, number of red and white cells, and haemoglobin value, in 67 young growing albino rats fed on a complete synthetic diet containing 100 γ of vitamin B₁₂ per kilogram of diet; on the same diet minus this

vitamin and folic acid; and on the same diet minus vitamin B₁₂ and folic acid, but with 0.05% aureomycin or penicillin respectively added to it.

The animals fed on the complete diet showed a moderate, statistically significant, increase of growth by weight, as compared with those receiving the same diet deprived of vitamin B₁₂ and folic acid. No growth differences of statistical significance were observed between animals on a deficient diet and those on a deficient diet to which antibiotics had been added. The increase in the number of red and white cells and in the haemoglobin value showed no noteworthy differences between the various batches of animals.

Zusammenfassung. — Der Verfasser beobachtete das Körpergewicht, die Zahl der roten und weissen Blutkörperchen sowie den Hämoglobinwert bei 67 jungen, im Wachstum begriffenen Albino-Ratten bei einer vollständigen synthetischen Diät mit 100 Einheiten Vitamin B₁₂, bei der gleichen Diät ohne dieses Vitamin und ohne Folinsäure sowie ebenfalls bei der gleichen Diät ohne Vitamin B₁₂ und Folinsäure jedoch mit einem Zusatz von 0,05% Aureomycin bzw. Penicillin.

Die mit der vollständigen Diät ernährten Tiere zeigten ein statistisch bezeichnende mässige Gewichtszunahme gegenüber den Ratten, die mit der Diät ohne Vitamin B₁₂ und ohne Folinsäure ernährt wurden. Statistisch bedeutende Wachstumsunterschiede zwischen den mit der Mangeldiät und den mit der Mangeldiät unter Zusatz von Antibiotica ernährten Tieren wurde nicht festgestellt. Bei den verschiedenen Tiergruppen zeigten sich keine bemerkenswerten Verschiebungen hinsichtlich der Entwicklung der roten und weissen Blutkörperchen sowie des Hämoglobinwerts.

Nel corso di questi ultimi anni è stato ampiamente dimostrato da parte di numerosi ricercatori che alcuni antibiotici possono esercitare un effetto favorevole nei confronti dell'accrescimento corporeo di numerose specie animali. Di questo problema ci siamo recentemente occupati in un lavoro in collaborazione con GIUNCHI, FIDANZA e SCURO (1) e ad esso rimandiamo per maggiori dettagli. Qui basterà rilevare che l'effetto stimolante la crescita da parte degli antibiotici non è sempre dimostrabile, nè, quando è presente, è sempre della stessa entità; infatti, come risulta dalla ormai abbondante letteratura al riguardo, esso varia notevolmente a seconda della specie animale considerata, del tipo di anti-

(1) FIDANZA A., GIUNCHI G., SCURO L. A., SORICE F. - Il Policlinico, sez. prat., 51, 1777 (1953).

biotico e di dieta basale impiegati, del dosaggio e della via di somministrazione degli antibiotici.

Nonostante l'abbondanza di ricerche eseguite, non è stato ancora chiarito l'intimo meccanismo con cui gli antibiotici possono favorire l'accrescimento corporeo di diverse specie animali, ma sembra sufficientemente dimostrato che tale azione si espliciti attraverso le modificazioni da essi indotte nei riguardi della flora batterica intestinale. Molti AA. [ATKINSON e COUCH; KNOEBEL e BLACK (², ³)]; ritengono che, attraverso una maggiore distruzione della flora batterica consumatrice o una selezione della microflora sintetizzatrice, gli antibiotici facilitino la liberazione di vitamina B₁₂, che, come è noto, è uno dei principali componenti del cosiddetto fattore proteico animale [OTT e coll. (⁴)]. Tale possibilità sembra plausibile tenendo conto che gli antibiotici si sono dimostrati capaci di migliorare la crescita di animali tenuti a dieta priva di varie vitamine del gruppo B come acido pantotenico (LIH e BAUMAN; DAFT e SCHWARZ; SAUBERLICH; FIDANZA e al.; GIUNCHI e al. (⁵, ⁶, ⁷, ⁸, ⁹, ¹⁰, ¹¹)) piridossina [LINKSWILER e al. (¹²)]; SAUBERLICH), tiamina (LIH e BAUMANN; SAUBERLICH), riboflavina (LIH e BAUMANN; DAFT e SCHWARZ; SAUBERLICH) e soprattutto in base a recenti ricerche che parlano di un'azione di risparmio esercitata da alcuni antibiotici nei confronti della stessa vitamina B₁₂. Infatti GROSCHKE ed EVANS (¹³) hanno visto che gli antibiotici possono stimolare la crescita di polli alimentati con quantità limitata di vitamina B₁₂ ed hanno attribuito tale stimolazione al maggior apporto della vitamina, mentre OLESON e al. (¹⁴) hanno osservato che pulcini, tenuti a dieta priva di vitamina B₁₂ o a dieta contenente quantità subottimali della stessa vitamina, crescevano meglio quando veniva aggiunta alla dieta dell'aureomicina. Di particolare interesse ci sono sembrate da questo punto di vista le ricerche di CRAVIOTO MUÑOZ e coll. (¹⁵), i quali hanno rilevato che l'aureomicina sa-

(²) ATKINSON R. L., COUCH J. R. - J. Nutrition, 44, 249 (1951).

(³) KNOEBEL L. K., BLACK A. - J. Nutrition, 48, 477 (1952).

(⁴) OTT W. H., RICKES E. L., WOOD T. R. - J. Biol. Chem., 174, 1047 (1948).

(⁵) LIH H., BAUMANN C. A. - J. Nutrition, 45, 143 (1951).

(⁶) DAFT F. S., SCHWARZ K. - Fed. Proc., 11, 200 (1952).

(⁷) SAUBERLICH H. E. - J. Nutrition, 46, 99 (1952).

(⁸) FIDANZA A., GIUNCHI G., RUTIGLIANO M. L., SCURO L. A., SORICE F. - Boll. Soc. It. Biol. Sper., 28, 1393 (1952).

(⁹) FIDANZA A., GIUNCHI G., RUTIGLIANO M. L., SCURO L. A., SORICE F. - Boll. Soc. It. Biol. Sper., 29, 69 (1953).

(¹⁰) GIUNCHI G., FIDANZA A., SCURO L. A., SORICE F. - Boll. Ist. Sieroter. Mil., 32, 459 (1953).

(¹¹) GIUNCHI G., FIDANZA A., SCURO L. A., SORICE F. - Int. Ztsch. Vitaminforschung, 25, 1 (1953).

(¹²) LINKSWILER H., BAUMAN C. A., SNELL E. E. - J. Nutrition, 46, 143 (1951).

(¹³) GROSCHKE A. C., EVANS R. J. - Poultry Sci., 29, 616 (1950).

(¹⁴) OLESON J. J., HUTCHINGS B. L., WHITEHILL A. R. - Arch. Biochem., 29, 334 (1950).

(¹⁵) CRAVIOTO MUÑOZ J., PONCHER H. G., WAISMAN H. A. - Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 77, 48 (1951).

rebbe capace di esplicare un'azione di risparmio nei confronti della vitamina B_{12} in giovani ratti alimentati con una dieta sintetica completa di tutti i fattori noti ad eccezione della vitamina B_{12} .

Abbiamo pertanto ritenuto opportuno condurre alcune esperienze allo scopo di controllare questi dati e di verificare anche l'eventuale azione della vitamina B_{12} e di alcuni antibiotici (aureomicina e penicillina) sull'accrescimento corporeo di ratti alimentati con una dieta sintetica equilibrata, completa di tutti i fattori vitaminici noti e sufficientemente ricca di proteine di origine animale.

TECNICA DELLE RICERCHE

L'esperienza è stata condotta su 67 ratti albini in accrescimento di peso iniziale variabile fra 40 e 60 g. Gli animali sono stati suddivisi in 4 lotti, rispettivamente di 15, 20, 15 e 17 ratti.

Il primo lotto è stato alimentato con una dieta sintetica così composta: caseina devitaminizzata 18%; saccarosio 67%; miscela salina (Osborne e Mendel) 4%; grasso di burro lavato 9%; olio di fegato di merluzzo 2%. Ad ogni kg di dieta sono state aggiunte le seguenti vitamine: tiamina mg 10, riboflavina mg 20, piridossina mg 10, pantotenato di calcio mg 100, acido nicotinico mg 100, biotina mg 1, acido folico mg 2, vitamina B_{12} γ 100, acido para-amino-benzoico mg 100, vitamina E mg 100, colina cloridrato mg 1000, inositolo mg 1000, menadione sodio-bisolfito mg 50, vitamina C mg 100, linoleato di etile g 10. Questo gruppo è stato tenuto come controllo.

Il secondo lotto è stato alimentato con la stessa dieta, priva sia della vitamina B_{12} che dell'acido folico, allo scopo di evitare interferenze di quest'ultimo nell'esperimento.

Gli animali del terzo e del quarto lotto hanno ricevuto la stessa dieta, priva di vitamina B_{12} e di acido folico, alla quale però vennero aggiunti rispettivamente aureomicina o penicillina nella dose di 0,05%.

Il cibo e l'acqua sono stati somministrati *ad libitum*. La somministrazione dei singoli antibiotici e della vitamina B_{12} è stata iniziata al VI giorno di esperimento, dopo un periodo di deplezione di 5 giorni, durante il quale fu somministrata ai ratti di tutti i lotti una dieta sintetica completa, priva di vitamina B_{12} e di acido folico.

Dal giorno in cui gli animali sono stati messi alle varie diete, per un periodo di 45 giorni, è stato seguito l'andamento del peso corporeo mediante pesate eseguite ogni 3 giorni. Alla fine dell'esperimento, in tutti i ratti è stata praticata anche la conta dei globuli rossi, il dosaggio dell'emoglobina e la conta dei globuli bianchi.

RISULTATI

Nella tabella I abbiamo riportato i pesi iniziali, i pesi finali e l'accrescimento durante i 45 giorni di esperimento, di tutti i ratti.

TABELLA I.

	I LOTTO			II LOTTO			III LOTTO			IV LOTTO		
	P. I. g	P. F. g	A. g	P. I. g	P. F. g	A. g	P. I. g	P. F. g	A. g	P. I. g	P. F. g	A. g
1	49	156	107	53	128	75	46	150	104	41	136	95
2	52	157	105	55	115	60	43	129	86	52	139	87
3	60	169	109	40	121	71	49	163	114	49	133	84
4	58	148	90	60	144	84	45	156	111	53	146	93
5	56	154	98	47	136	89	42	128	86	60	145	85
6	56	157	101	55	132	77	49	159	110	49	135	86
7	60	187	127	59	119	60	50	158	108	46	126	80
8	58	171	113	51	130	79	57	120	63	52	124	72
9	53	150	97	49	120	71	55	166	111	44	129	85
10	58	165	107	60	133	73	59	125	66	42	128	86
11	47	148	101	60	158	98	60	133	73	52	120	68
12	44	140	96	57	148	91	48	124	76	60	144	84
13	52	164	112	54	154	100	59	149	90	52	145	93
14	45	158	113	60	155	95	49	110	61	59	140	81
15	48	159	111	47	143	96	51	157	107	47	126	79
16	—	—	—	55	152	97	—	—	—	50	145	95
17	—	—	—	96	135	89	—	—	—	43	140	97
18	—	—	—	42	140	98	—	—	—	—	—	—
19	—	—	—	50	140	90	—	—	—	—	—	—
20	—	—	—	46	140	94	—	—	—	—	—	—

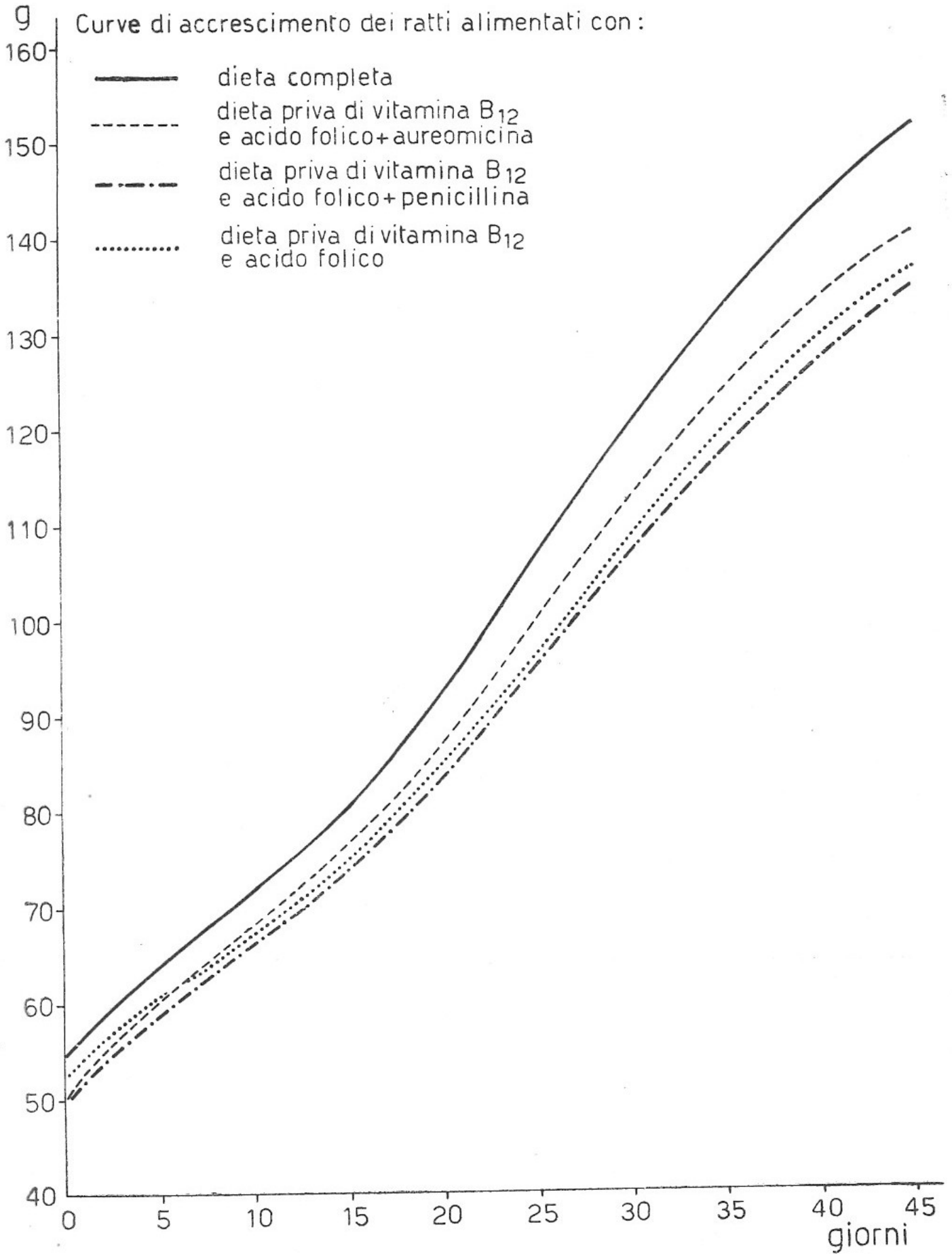
P. I. = peso iniziale; P. F. = peso finale; A = accrescimento.

Nella tabella II è indicata invece la media dell'aumento di peso in grammi dei singoli lotti di ratti, durante i 45 giorni dell'esperimento. Le cifre in parentesi indicano il numero degli animali dai cui valori è stata fatta la media.

TABELLA II.

I lotto	(15) = + 105,8
II lotto	(20) = + 84,3
III lotto	(15) = + 91,0
IV lotto	(17) = + 85,2

Nella figura 1 sono riportate le curve di crescita dei 4 lotti di ratti (valori medi).



Dall'esame delle tabelle e della curva soprariportate, risulta che gli animali alimentati con la dieta completa hanno presentato un modico aumento dell'accrescimento ponderale nei confronti di quelli che ricevevano la stessa dieta priva di vitamina B₁₂ e di acido folico addizionata o meno degli antibiotici. I ratti alimentati con la dieta carente con l'aggiunta di aureomicina hanno presentato un incremento ponderale alquanto inferiore a quelli che ricevevano la vitamina e solo di poco superiore a quelli alimentati con la dieta priva sia delle vitamine che dell'antibiotico. Infine i ratti che ricevevano la dieta priva di vitamina e di acido folico, con l'aggiunta di penicillina hanno mostrato una curva di crescita ponderale analoga ai controlli tenuti a dieta carente.

L'elaborazione statistica dei dati ottenuti ha permesso di stabilire che le differenze riscontrate fra l'aumento ponderale dei ratti del primo lotto e quello dei ratti degli altri lotti, benchè di entità non molto notevole, sono tuttavia significative. Infatti fra I e II lotto si ha $T = 5,50 > t = 2,028$, fra I e III lotto $T = 4,08 > t = 2,069$ e fra I e IV lotto $T = 7,2 > t = 2,042$.

Non risultano invece statisticamente significative le differenze fra l'aumento ponderale dei ratti del II e del III lotto ($T = 0,85 < t = 2,048$) del II e del IV lotto ($T = 0,28 < t = 2,030$), del III e del IV lotto ($T = 1,74 < t = 2,060$).

Il numero dei globuli rossi, il tasso dell'emoglobina e il numero dei globuli bianchi non hanno presentato variazioni apprezzabili fra i vari lotti; in tutti i casi essi hanno infatti oscillato entro l'ambito dei valori normali. Nella tabella III riportiamo comunque la media di questi valori per i singoli lotti di animali.

TABELLA III.

	G. R.	Hb	G. B.
I lotto	8.430.000	96	12.000
II lotto	7.920.000	92	12.800
III lotto	8.100.000	92	15.500
IV lotto	7.720.000	90	13.000

G. R. = globuli rossi per mm³; Hb = emoglobina (Sahli); G. B. = globuli bianchi per mm³.

COMMENTO

Le nostre ricerche ci permettono di affermare che la vitamina B₁₂ esplica una modica, ma sicura azione favorente sull'accrescimento di giovani ratti, alimentati con una dieta sintetica comprendente tutte le altre vitamine note in dose ottimale ed un'elevata quantità di caseina, che, come si sa, contiene un fattore proteico non identificabile con nessuna vitamina nota, indispensabile per il normale accrescimento e riproduzione del ratto (¹⁶, ¹⁷).

L'aureomicina e la penicillina invece non sono capaci di esplicare alcuna sicura azione su ratti tenuti nelle stesse condizioni. D'altra parte è noto dalla letteratura che tali antibiotici possono invece esercitare una spiccata azione stimolante la crescita di varie specie animali, quando la dieta impiegata sia a scarso apporto proteico ovvero ad apporto proteico quasi esclusivamente vegetale e quindi di scarso valore biologico; in tali condizioni anche l'azione della vitamina B₁₂ sembra divenire molto più manifesta [(DI BELLA e VACCA; ALMQUIST e MERRITT; LUECKE e coll.; KNOEBEL e BLACK (¹⁸, ¹⁹, ²⁰, ²¹)). A questo proposito ricordiamo che USUELLI e PIANA (²²) al I Congresso Zootecnico Siciliano hanno affermato che l'uso della vitamina B₁₂ allo scopo di favorire l'accrescimento di giovani suini, è giustificato solo se nella razione alimentare non figurano farine di origine animali e l'apporto proteico, per essere unilaterale, è di scarso valore biologico.

Ad analoghe conclusioni diversi AA. sono giunti anche per quanto riguarda l'uomo; infatti MAGGIONI e coll. (²³) hanno potuto documentare che bambini in deficienti condizioni di nutrizione per scarso apporto di proteine animali, trattati con 20 gamma di vitamina B₁₂ *pro die* crescevano nettamente più dei controlli che non ricevevano la vitamina; d'altra parte SCRIMSCHAW (²⁴) ha osservato che bambini da lui trattati con aureomicina mostravano un chiaro aumento di peso nei confronti dei non trattati, solo quando la dieta basale conteneva 5 g di proteine al giorno, mentre tale effetto non si verificava più se i bambini ricevevano 13 g di proteine al giorno.

(¹⁶) PICCIONI M., RABBI A., MORUZZI G. - Science, 113, 179 (1951).

(¹⁷) MORUZZI G., RABBI A., PICCIONI M. - Int. Ztsch. Vitaminforschung, 23, 59 (1951).

(¹⁸) DI BELLA G., VACCA C. - Boll. Soc. It. Biol. Sper., 28, 1700 (1952).

(¹⁹) ALMQUIST H. J., MERRITT J. B. - Poultry Sci., 30, 312 (1951).

(²⁰) LUECKE R. W., McMILLEN W. N., THORP F. jr. - Arch. Biochem., 26, 326 (1950).

(²¹) KNOBEL L. K., BLACK A. - *loco citato*.

(²²) USUELLI F., PIANA G. - Atti I Congr. Zootecn. Sicil., Palermo 1952.

(²³) MAGGIONI G., LANCIANO O., CORBO S., FUNARO R. - Ped. Int., 3, 241 (1953).

(²⁴) SCRIMSCHAW N. - Proc. Food. Nutrit. Board., 12, 21 (1952).

La vitamina B₁₂ e gli antibiotici da questo punto di vista sembrano pertanto comportarsi diversamente dall'acido folico, il quale, secondo ASCHKENASY-LELU e ASCHKENASY (25) agevola invece l'accrescimento corporeo di ratti alimentati con una dieta contenente il 15% di caseina, mentre non esplica alcuna azione favorente quando la percentuale della caseina scende al di sotto del 7%.

E' infine da rilevare che le nostre ricerche non hanno confermato i dati di CRAVIOTO MUÑOZ e coll. (26) in quanto, con la dieta da noi impiegata, non è stato possibile dimostrare una chiara azione di risparmio da parte degli antibiotici nei confronti della vitamina B₁₂.

CONCLUSIONI

In base alle nostre ricerche si può affermare che:

1) La vitamina B₁₂, nella dose di 100 gamma pro kilo di dieta, esercita una modica influenza stimolante l'accrescimento corporeo di giovani ratti alimentati con una dieta ricca di protidi di origine animale ed equilibrata nei suoi componenti. Infatti gli animali alimentati con dieta completa hanno presentato un aumento statisticamente significativo dell'aumento ponderale nei confronti di quelli che ricevevano la stessa dieta priva della vitamina B₁₂ e dell'acido folico.

2) Nei ratti alimentati con questa dieta non è stato possibile dimostrare una chiara azione di risparmio da parte degli antibiotici nei confronti della vitamina B₁₂.

3) L'andamento del valore dell'emoglobina, del numero dei globuli rossi e del numero dei globuli bianchi non ha presentato variazioni degne di nota fra i vari lotti di animali.

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

(25) ASCHKENASY-LELU, ASCHKENASY - Arch. Int. Physiol., 56, 132 (1948).

(26) CRAVIOTO MUÑOZ J., PONCHER H. G., WAISMAN H. A. - loco citato.