

32. Livio VIVALDI - Antigene tifico nella cura dell'infezione eberthiana.

Nella seconda metà dell'anno 1944 in occasione di una epidemia di ileotifo in provincia di Frosinone, che si presentava grave per numero di casi e per estensione territoriale, avemmo richiesta da parte di quella Autorità Sanitaria d'un preparato batterico curativo che compensasse la scarsità di prodotti simili che si aveva in quel momento nella località.

Per l'allestimento del nostro preparato scegliemmo uno stipite ad alta virulenza, proprietà che noi riteniamo dipenda, oltre che dallo speciale costituente glicolipidico, dalla capacità del germe, in tal fase, di riprodursi con un ritmo molto più rapido nell'organismo; proprietà da cui noi pensiamo possono derivare i gravi sintomi clinici che ne sono l'esponente. Questa nostra affermazione riteniamo trovi conferma nel fatto che la virulenza varia nella stessa specie di germi per i vari stipiti, e che con inoculazioni in serie si può elevare quella di un dato stipite, e determinare fra gli elementi batterici che lo compongono una selezione dei più virulenti.

La virulenza delle Salmonelle è dovuta ad endotossine; si deve quindi pensare a reazioni di scambio fra le singole cellule batteriche e le singole cellule dell'organismo. Deriva da ciò che si possono riportare tali fenomeni ad azione di superficie che è caratteristica delle sostanze colloidali. Per questa ragione noi abbiamo sottoposto lo stipite prescelto ad un procedimento di lisi batterica con aumento della dispersione colloidale. Questa ha anche il vantaggio di produrre nell'organismo gli stessi effetti con un numero di germi integri molto inferiore. D'altra parte noi siamo per l'uso degli antigeni completi poichè essi riproducono nell'organismo le naturali condizioni dell'infezione.

Per portare allo stato colloidale la sospensione batterica in eccipiente liquido, abbiamo usato il metodo che il Grasset ha applicato al suo vaccino antitifico ad unica iniezione, e che consiste nel tenere i germi per periodi alternati di permanenza allo stato di congelazione a bassa temperatura e di temperatura di termostato.

Per illustrare il valore dell'aumento di superficie specifica

che si verifica nello stato colloidale (cioè il rapporto fra superficie assoluta degli elementi ed il loro volume) si può fare un paragone con quello che avviene quando partendo da un piccolo cubetto si supponga che esso si frazioni in cubetti uguali sempre più piccoli; la superficie che si ottiene in questi è di gran lunga maggiore di quello iniziale. Se traduciamo in cifre questa operazione vedremo ad esempio che se si ha un cubetto iniziale di 1 centimetro di spigolo la sua superficie totale è di 6 cm^2 , se supponiamo che questo cubetto si divida in cubetti uguali di 1 micron di spigolo si otterrà una superficie totale di 6 m^2 ; se passiamo a considerare una divisione spinta fino a grandezze dell'ordine molecolare e cioè di un cubetto di spigolo di un $\text{\AA}$ ($1/10.000.000$ di cm.) si giunge ad una superficie totale di 6 ettari.

Nel caso del baccillo del tifo si parte da elementi che hanno dimensioni medie di 1-3,5 micron per 0,5-0,8 micron ed è presumibile quindi che, con il metodo che noi usiamo, si giunga ai valori dimensionali dei colloidi che sono compresi fra il micron e il millimicron.

Per essere più certi che il nostro materiale fosse omogeneo e si trovasse tutto in questo stato colloidale, esso veniva posteriormente centrifugato e filtrato per filtro Seitz.

Si ottiene così un liquido che in strato spesso ha un aspetto limpido e colorito bruno scuro; in strato più sottile è invece giallo ambra.

Questo liquido, sottoposto all'osservazione microscopica in campo scuro, non presenta alcun elemento figurato.

Il liquido così ottenuto viene graduato in 4 concentrazioni di diluizione progressiva che si usano per la cura.

Si sono eseguite determinazioni chimiche sulla sua composizione e di quella di preparati simili di alcuni altri Istituti produttori italiani. A questo fine si è ricorso al Microkieldahl applicato col fotometro di Pulfrich: e si è così determinato il contenuto in azoto. E' risultato da questo esame che in 1 cmc. del nostro prodotto sono presenti 0,096 mgr. e 0,11 mgr. nei prodotti provenienti dall'Istituto Sieroterapico Milanese e dall'Istituto Sieroterapico Toscano. Da tali valori si ottiene che si hanno rispettivamente 0,6 mgr. e 0,61 mgr. di sostanza proteica per ogni cmc.

Da questi dati risulta che materiali di diversa provenienza ed ottenuti, probabilmente, con tecniche un po' differenti, hanno quantità di azoto e rispettivamente di proteine quasi identiche e rappresentate da cifre percentuali minime. Le azioni tossiche di tali percentuali di proteine risultano nulle negli animali da esperimento. Infatti nelle cavie di 200 gr. di peso l'inoculazione sottocutanea della dose più alta per l'uomo, di tali prodotti antigeni curativi, che è di 1 cmc., non provoca alcuna infiltrazione. Parimenti l'inoculazione di 0,5 cmc. di tale materiale nel peritoneo di un topolino albino di 15 gr. di peso risulta completamente innocuo.

Esponiamo qui i risultati dell'impiego nella pratica clinica del nostro Antitifo. A tal fine riportiamo una breve relazione, inviataci a nostra richiesta, dal Direttore della Sezione Medico Micrografica del Laboratorio Provinciale d'Igiene e Profilassi di Frosinone.

« L'antitifo è stato sperimentato nei Comuni di Cassino, Frosinone, Fiuggi e Guarcino, su circa 350 casi di tifo nei quali la diagnosi clinica è stata quasi sempre confermata dalla Widal eseguita nel nostro Laboratorio.

L'Antitifo è stato adoperato unicamente endovena e le inoculazioni sono state praticate alla distanza di 2-4 giorni a seconda della reazione febbrile.

Nella maggior parte dei casi la prima iniezione è stata eseguita in 7^a-10^a; in qualche caso, in seguito a diagnosi tardiva, la cura ha avuto inizio in 15^a-20^a giornata. Ogni iniezione di vaccino è stata sempre preceduta da somministrazione di preparati canforati.

La prima iniezione ha quasi sempre dato luogo ad una reazione violenta (dopo circa 1 ora dall'iniezione aumento rapido della temperatura sui 40°, 5-41°, 5, brividi, dispnea, frequenza di polso ecc.) della durata di circa 2 ore, per poi avere sudorazione ed abbassamento della temperatura anche sino a 35°, 5.

La violenza della reazione in seguito a questa prima inoculazione consiglia il medico a somma vigilanza. Le altre iniezioni provocano reazioni più attenuate.

In trenta casi, a seguito della violenta reazione della prima

iniezione, si è avuta l'immediata guarigione. Tifosi guariti in 8^a-10^a giornata.

Negli altri casi dopo circa 24 ore dalla prima iniezione, la temperatura risale senza però raggiungere nella maggior parte l'acme dei giorni precedenti.

Tutti i casi non guariti dopo la prima iniezione, ad eccezione di pochi, sono stati trattati con la cura completa.

Con simile trattamento, pur non riducendosi la durata della malattia, si ha una sensibile diminuzione dei fenomeni tossici, tanto che si sono ridotte al minimo le complicazioni. Si sono avuti fra i trattati 6 morti tutti per enterorragia e perforazione intestinale, di cui uno solo trattato, in 7^a giornata, tutti gli altri tardivamente.

Concludendo l'antitifo si dimostra:

1) efficacissimo se adoperato nei primi giorni di malattia tanto da stroncare addirittura l'infezione;

2) efficace perchè la malattia pur seguendo la sua normale durata decorre un modo benigno e senza complicate.

Data la reazione violenta dopo la prima iniezione il medico deve assicurarsi delle condizioni di cuore del paziente ».

Da quanto sopra viene esposto si può desumere che la reazione termica è piuttosto elevata ma la sua durata è limitata, e ciò rappresenta probabilmente un alleviamento per l'organismo.

A conferma di questo possiamo dire che da notizie avute da medici curanti che hanno usato in qualche caso, durante la stessa epidemia, prodotti degli Istituti summenzionati, risulta che le reazioni prodotte dal nostro Antitifo sono un po' più accentuate. Noi pensiamo che ciò sia dovuto ad una maggiore dispersione colloidale poichè come si è visto dalle cifre suddette sul dosaggio di azoto, il contenuto ponderale di questo è minore rispetto ai prodotti degli altri due Istituti.

L'efficacia curativa del prodotto sembra dimostrata soprattutto nei 30 casi guariti con una sola iniezione che si devono considerare tutti come trattati inizialmente in quanto risultano guariti in 8^a-10^a giornata.

Noi consigliamo infatti, nell'istruzione unita al preparato, di usarlo soprattutto nei casi di diagnosi precoce in modo che esso agisca nella fase batteriemia della malattia. Ora secondo il no-

stro pensiero la produzione di anticorpi viene resa più rapida dallo stimolo sussidiario dato dall'antigene inoculato ed essi agiscono più prontamente contro i germi perchè nel sangue trovano presente ed attivo il complemento necessario per la batteriolisi. Inoltre la azione meccanica del circolo tende a rendere più intimi ed estesi i fenomeni di legame fra germi ed anticorpi. Questa nostra affermazione ci pare possa trovare una prova suffragante nei dati riguardanti i 30 casi guariti con una sola iniezione.

Anche l'andamento ulteriore della malattia può dare un'altra prova indiretta di questa nostra affermazione. Si sa infatti che dopo i primi 7-10 giorni di febbre l'emoculture restano spesso negative e che il germe si rifugia nel sistema linfatico nel quale come in altri organi strettamente connessi con esso sono elementi cellulari produttori di anticorpi, e ciò nonostante l'infezione si attarda per un periodo relativamente lungo. Noi riteniamo che ciò sia dovuto al minor dinamismo di quel sistema, da cui deriva una meno attiva neutralizzazione dell'azione aggressiva del germe.

D'altro canto l'organismo colpito da malattie infettive guarisce per fenomeni reattivi che hanno origine nei suoi organi e tessuti.

Una prova palmare di questo in campo analogo si ebbe quando si studiò sperimentalmente l'azione degli arsenobenzoli dai quali studi risultò che non si aveva affatto quella che lo scopritore del prodotto Ehrlich chiamò « sterilisatio magna » e cioè un'azione diretta del composto contro il germe, ma bensì quella avveniva attraverso una azione mediata dell'organismo.

Analogo è anche il comportamento dei Sulfamidici e della Penicillina che sono solamente sostanze batteriostatiche ed è questa batteriostasi che dà tempo all'organismo di incrementare le sue difese e superare l'infezione.

Sulla natura dell'azione terapeutica degli antigeni i pareri sono divisi ed i clinici sono portati ad ammettere che quella aspecifica valga la specifica, dato che se ne hanno risultati analoghi.

Ora un elemento comune alle due terapie è la febbre per la quale gli studiosi della sua fisiopatologia sono giunti alla conclusione che essa agisce come attivatrice del ricambio organico e dei fenomeni immunitari e che in rapporto allo stimolo febbrile si ha una maggiore attività fagocitaria dei leucociti e di produzione degli

anticorpi. Si può quindi pensare che per questa via agisca la proteinterapia aspecifica.

Nei riguardi del tifo, se noi paragoniamo il tenore in proteine dei preparati usati per la proteinterapia aspecifica, si vede che essi presentano un contenuto ponderale altissimo di proteine in confronto di quello degli antigeni specifici che come abbiamo visto è dell'ordine di 0,096 mgr. Nella dose minore la diluizione del vaccino scende a 0,0096 mgr. dato che il rapporto è di 1:9 fra la 4^a e la 1^a dose che come abbiamo detto è quella che dà all'inizio del trattamento fortissime reazioni dell'organismo.

Le conclusioni che si possono trarre da quanto sopra abbiamo esposto ci pare permettono di affermare che nell'uso dei vari mezzi terapeutici parenterali per combattere le malattie infettive la scelta degli antigeni specifici sia preferibile, in quanto stimolano più facilmente e più completamente la reazione immunitaria che è l'elemento della guarigione. Riteniamo inoltre che gli antigeni specifici data la tenuità del loro contenuto, in proteine siano più agevolmente eliminati che non le proteine eterologhe dei composti proteinterapici, e ciò anche con minor aggravio per l'emuntorio.

Roma - Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di batteriologia, 10-9-1946.

RIASSUNTO

Si espongono i particolari della preparazione di uno speciale antigene curativo contro l'ileotifo, ottenuto con la lisi del bacillo.

Si è determinato il contenuto in proteine del liquido che è risultato dell'ordine di frazioni di milligrammo.

Si riferisce sul suo impiego in un episodio epidemico in cui sono stati trattati 350 casi; di questi 30 sono guariti con una sola inoculazione, altri 314 hanno richiesto il trattamento completo (4 inoculazioni) nel decorso del quale si è avuta una sensibile attenuazione dei fenomeni tossici e carenza di complicazioni. I decessi sono stati 6.

Si fanno considerazioni in proposito.

RESUMÉ

On expose les détails de la préparation d'un antigène spécial curatif de l'iléo-typhus, obtenu par la lysis du bacille.

On a déterminé la teneur en protéines du liquide, qu'on a trouvé de l'ordre de fractions d'un milligramme.

On rapporte sur l'emploi que l'on a fait de cet antigène dans un épisode épidémique, où 350 cas ont été traités; de ceux-ci, 30 ont été guéris par une seule inoculation, 314 autres cas ont exigé un traitement complet (4 inoculations), au cours duquel s'est vérifiée une sensible atténuation des phénomènes toxiques, avec absence de complications. Les décès ont été 6.

On fait quelques considérations à ce sujet.

SUMMARY

Particulars are given of the preparation of a special curative antigen against ileo-typhus, obtained through lysis of the bacillus.

The protein content of the liquid has been determined, resulting of the order of fractions of a milligram.

Particulars are given also of the use of the above antigen in an epidemic episode, in which 350 cases were treated; of these, 30 were healed by one inoculation, whereas for 314 cases a complete treatment (4 inoculations) was required, in the course of which a noticeable attenuation of the toxic phenomena appeared and no complications occurred. There were only 6 deaths.

Some considerations are suggested by the above study.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird die Herstellung eines speziellen Antigens zur Behandlung des Ileotophus beschrieben, das durch Bakteriumlysis erhalten wird.

Eine Bestimmung des Proteigehaltes der hergestellten Flüssigkeit hat einen Wert der Grössenordnung von Burchteilen eines Milligramms ergeben.

Es wird ferner über die Verwendung eines solchen Antigens anlässlich einer Epidemie berichtet, in welcher 350 Erkrankungs-fälle behandelt wurden; von diesen wurden 30 Fällen durch eine einzige Injektion geheilt, während in 314 Fällen die völlige Behandlung (4 Injektionen) nötig war, in deren Verlauf eine merkliche Milderung der toxischen Erscheinungen eintritt und keine Complicationen entstanden. Die Todesfälle betrugen 6.

Durch dieses Studium wird zu manchen Ueberlegungen Anlass gegeben.
