

68. Giuseppe PENSO, Giovanni LELLI e Vittorio ORTALI. — Studi e ricerche sui micobatteri. - Nota III. Sul potere patogeno di un micobatterio: il cosiddetto "ceppo Battaglini", (*).

Riassunto. — Vengono descritte le lesioni anatomopatologiche provocate nei conigli inoculati con un micobatterio noto col nome di « Ceppo Battaglini ». Tali lesioni da un lato ricordano le lesioni tubercolari vere, mentre dall'altro vanno interpretate come lesioni specifiche da considerarsi nel quadro di una reticolo-endoteliosi infiammatoria soprattutto evidente a carico della milza e del fegato.

Résumé. — Les AA. ont étudié le pouvoir pathogène d'une mycobactérie, connue sous le nom de « souche Battaglini », en l'inoculant à des lapins par voie intraveineuse, à la dose de 1 mg par cm³ de solution physiologique. Cette souche provoque chez le lapin une réaction des tissus, surtout orientée vers celle du type granulomateux avec des aspects morphologiques qui rappellent les caractères pathognomoniques de la tuberculose (nécrobiose de forme caséuse, réaction épithélioïde, formation de cellules du type Langhans); toutefois, il est possible de distinguer une formation à caractère plus particulièrement exsudatif (alvéolite, broncho-alvéolite, pneumonie) sans caractères pathognomoniques; une deuxième forme d'un type plus nettement productif (centres nodulaires du type épithélioïde, alvéolites épithélioïdes, etc.); une troisième forme d'un type nettement granulomateux avec centre nécrobiotique et réaction périphérique hyperplastique épithélioïde avec des cellules géantes. Ces trois formes peuvent être associées ou bien séparées dans les divers tissus et organes. Comme dans toute autre forme granulomateuse, il n'y a ici aucun élément morphologique spécifique (la spécificité étant caractérisée par un rapport étroit entre antigène et cytoréaction submicroscopique), peut-être aussi aucun élément pathognomonique, car cette réaction peut être facilement confondue avec d'autres réactions granulomateuses, particulièrement avec la réaction tuberculeuse; avec celle-ci elle a surtout le caractère commun d'un processus nécrobiotique qui est probablement associé à des fractions de la structure bacillaire ayant plus particulièrement une action désintégrante nécrotique.

Summary. — The AA. have studied the pathogenic power of a mycobacterium known by the name of « Battaglini Strain », by inoculating it intravenously into rabbits in quantities of 1 mg per cm³ of physiological salt solution. This strain produces in the rabbit a reaction of its tissues,

(*) Presentato all'Accademia dei Lincei nella seduta del 14 maggio 1949.

predominantly approximating to the granulomatous form with some morphological characters recalling the pathognomonic aspects of tuberculosis (necrobiosis of a caseous type, epithelioid reaction, formation of cells of the Langhans type); it is possible, however, to distinguish a reaction having a conspicuously exudative character (alveolitis, broncho-alveolitis, pneumonia) without pathognomonic characters; a second type of a more marked productive character (nodular centres of the epithelioid type, epithelioid alveolitis, etc.); a third type of a decidedly granulomatous character with a necrobiotic centre and peripheral hyperplastic epithelioid and gigantocellular reaction. These three forms may be either associated or separately located in the various tissues and organs as in any other granulomatous form. This reaction does not present in itself any specific morphological element (specificity being inherent in the close relationship between antigen and submicroscopical cytoreaction), does not have any pathognomonic element at all, inasmuch as it can be easily confused with other granulomatous reactions, especially the tuberculous one; with the latter it has in common, more than anything else, a necrobiotic process probably connected with the fractions of the bacillary structure which have a predominantly disintegrating necrotic action.

Zusammenfassung. — Die V.V. haben die pathogene Wirkung eines unter dem namen « Battaglini Stamm » bekannten Mycobakteriums beobachtet, indem sie dieses in der Menge von 1 mg pro cm³ physiologischer Lösung intravenös in Kaninchen inokulierten. Dieser Stamm ruft bei den Kaninchen eine, hauptsächlich gegen jene des granulomatösen Typus orientierte Reaktion der Gewebe hervor, mit einigen morphologischen Eigenschaften, welche an die pathognomonischen der Tuberkulose (käseartige Nekrobiose, epithelartige Reaktion, Bildung von Zellen des Typs von Langhans) erinnern; es ist jedoch möglich, eine Bildung rein exudativen Charakters (Alveolitis, Broncho-alveolitis, Lungenentzündung) bei fehlenden pathognomonischen Charakteren zu unterscheiden, eine zweite Art ausgesprochen produktiver (epithelartige Knötchenzentren, epithelartige Alveolitis, etc) eine dritte entschieden granulomatösartige Form mit nekrobiotischem Zentrum und hyperplastischer epithelartiger und riesenzellulärer peripherischer Reaktion. Die 3 Formen können assoziiert oder getrennt in den verschiedenen Organen auftreten. Wie jede granulomatöse Form, hat sie kein spezifisches morphologisches Bestandteil in sich (denn die Spezifität entsteht aus dem engen Verhältnis zwischen Antigene und submikroskopischer Cytoreaktion) und vielleicht auch kein pathognomonisches Element, insofern man es leicht mit anderen granulomatösen Reaktionen und im besonderen mit der tuberkulösen verwechseln kann; mit dieser hat sie hauptsächlich einen nekrobiotischen Prozess

gemein, welcher wahrscheinlich an Fraktionen der Bazillenstruktur mit vorherrschender zerstörender nekrotischer Wirkung gebunden ist.

Nel 1935, Ugo Battaglini, dell'Istituto Pasteur di Parigi, comunicava alla *Société de Biologie* (C.R.S.B. 1935, CXVIII, 305) di avere isolato dalle ghiandole trachebronziali ipertrofiche di una cavia « nuova », un germe acidoresistente, bianco, liscio, cremoso che cresceva più o meno bene in tutti i comuni terreni di cultura, germe che, inoculato nelle cavie per via sottocutanea, endoperitoneale o endovenosa, si dimostrava dotato di « un certo potere patogeno »: ascesso locale con ipertrofia seguita da colliquazione delle ghiandole corrispondenti; estensione del processo morboso al fegato e alla milza, che si presentavano ipertrofici, mentre nel fegato si mettevano in evidenza macchie puntiformi. L'Autore non fornisce alcun dato sulle alterazioni istologiche osservate, e aggiunge che il germe non provoca nei conigli, anche se inoculato per via endovenosa e nella dose di 10 mgr « nessuna lesione viscerale visibile »; malgrado ciò, un coniglio morì dieci giorni dopo l'inoculazione: dal di lui fegato e milza si poté ricoltivare il micobatterio inoculato. L'Autore non dà nessun ragguaglio sul numero di animali impiegati per tali esperienze e parla di un solo pollo usato per prove compiute su tali volatili.

Da parte nostra, in una serie di ricerche orientative sul potere patogeno dei diversi micobatteri non tubercolari, fummo colpiti dal costante potere patogeno del ceppo Battaglini inoculato nei conigli; questi, infatti, andavano costantemente a morte con o senza lesioni macroscopicamente visibili, ma sempre con lesioni istologiche ben definite. Su 18 conigli inoculati in queste prove di orientamento, 12 presentarono lesioni a focolaio macroscopicamente visibili e 6 soltanto lesioni microscopiche, identiche, però, a quelle presentate dai conigli che avevano lesioni visibili.

Prima di descrivere tali lesioni — scopo precipuo della presente comunicazione —, vogliamo riferire qualche dato sul ceppo Battaglini, e ciò perchè su di esso nulla è stato pubblicato dopo la prima e breve comunicazione del Battaglini stesso.

Uno studio completo e sistematico del germe in questione e di altri tre ceppi (Butter, Lanterna e Vallée gelb), che noi consideriamo identici al Battaglini, sarà fatto prossimamente, i pochi dati che oggi forniamo non sono che una premessa a quel nostro imminente lavoro.

Il ceppo Battaglini in nostre mani lo abbiamo avuto con questo nome, direttamente dall'Istituto Pasteur di Parigi.

Si tratta di un germe fortemente acido e alcool resistente, le cui culture presentano un pigmento giallo e sono capaci di svilupparsi sino alla temperatura di 47° C. Il ceppo in questione — coltivato su terreno

di Merril all'agar purificato — è incapace di utilizzare i carboidrati come fonte di carbonio ed è capace di vegetare soltanto in presenza di glicerina. Uguale comportamento hanno anche gli altri tre ceppi menzionati e tutti e quattro sono lisati da un ceppo di *Phagus phlei* indotto sul Battaglini.

Il nostro micobatterio — e i suoi tre consimili — ha tutto l'aspetto di essere una specie a se stante, più che un indeterminato « bacillo paratuberculare » nel qual gruppo il Battaglini lo vuol « classificare ». Ma di ciò noi tratteremo ampiamente nel preannunziato nostro prossimo lavoro.

Le esperienze orientative sul potere patogeno di vari micobatteri, e del ceppo Battaglini in particolare, sono state condotte inoculando conigli per via endovenosa con 1 mg di germi sospesi in 1 cm³ di soluzione fisiologica.

Gli organi più frequentemente colpiti sono stati la milza e il polmone.

Nel polmone i focolai flogistici, spesso in forma nodulare, sono giallastri, distribuiti bilateralmente e senza particolarità di localizzazione. Qualche volta si hanno focolai broncopneumonici a tipo caseoso, altre volte localizzazioni a tipo miliarico o submiliarico. In qualche cosa il processo morboso è molto esteso e grave; in altri, invece, scarso e limitato.

Nella milza, la disseminazione nodulare è di diversa intensità. I nodulini, talvolta visibili anche all'esame esterno, sono bianco-giallastri e possono talvolta confondersi, per il loro volume ridotto, con formazioni linfatiche; talvolta, invece, sono nettamente distinguibili per la maggiore grandezza, per la loro forma e consistenza. Talora sono a tipo miliarico. Nella milza si ha, molto spesso, un notevole aumento di volume che può raggiungere anche 4 o 5 volte il normale. La capsula, in tali casi, è tesa e talvolta ispessita, i margini arrotondati. Al taglio, oltre il reperto frequente dei noduli già ricordati, si rileva un apparente aumento del connettivo, con polpa trattenuta e spesso congesta. La consistenza dell'organo risulta quasi sempre diminuita con facile apprezzamento tattile di noduli duri corrispondenti a localizzazioni specifiche.

Anche il fegato presenta spesso lesioni a tipo nodulare e un certo grado di congestione.

Alterazioni abbastanza frequenti si notano a carico delle linfoghiandole che sono aumentate di volume e di colorito giallastro. In un caso erano evidenti ghiandole notevolmente tumefatte al giugulo.

In un caso con alterazioni polmonari gravi e diffuse, apparivano compromesse anche le pleure, il peritoneo, le trombe oltre agli organi in precedenza ricordati (milza e fegato).

In un caso abbiamo riscontrato una flogosi necrotica di uno dei due surreni con distruzione totale della midollare sostituita da materiale giallastro, compatto, asciutto.

Alle alterazioni di focolaio ora ricordate si aggiungono quelle riportabili ad uno stato degenerativo torbido grasso esteso più o meno a tutti i parenchimi.

All'esame istologico, sistematicamente condotto su tutti gli organi, risulta che nei focolai nodulari si riscontrano quadri istologici di flogosi prevalentemente produttiva. Solo in qualcuno di essi si ha disfacimento necrotico dei tessuti con un aspetto più o meno identificabile con quello della necrosi caseosa tubercolare (fig. 1). Il tessuto di granulazione è formato in prevalenza da elementi a tipo istiocitario con presenza di molte cellule giganti plurinucleate. Mancano in genere i linfociti.

A carico del polmone è frequente un'alterazione nodulare a tipo broncopneumonico, spesso con lesione alveolitica desquamativa perinodulare. Molti noduli sono localizzati in vicinanza o addirittura aderenti alla parete bronchiale (fig. 2); la loro grandezza è molto variabile. Nell'interno delle cavità alveolari vi sono, in estesi tratti, numerose cellule rotondegianti od ovalari, con abbondante citoplasma e con alone periferico ipercromico di demarcazione (figg. 3 e 4). Nell'interno degli stessi alveoli si osservano frequentemente cellule giganti plurinucleate, con nuclei disposti alla periferia. Gli elementi istiocitari dei focolai polmonari ispessiscono in alcuni punti i setti interalveolari.

Nella milza si rileva, nei casi di splenomegalia, una forte e diffusa proliferazione di cellule piuttosto grandi, a tipo endotelioide, ammassate in più punti sino a costituire focolai che corrispondono ai noduli rilevati macroscopicamente e che sostituiscono il tessuto normale dell'organo (fig. 5). Tale proliferazione è uniformemente diffusa con qualche centro di maggiore accentuazione. Elementi di questi tipo si riscontrano anche nell'interno dei follicoli linfatici, dove si distinguono particolarmente bene dai linfociti per la grandezza e per la acidofilia del citoplasma. I follicoli linfatici sono in genere piccoli, spesso dimezzati dal tessuto istioide in proliferazione; in qualche caso particolarmente grave, la polpa splenica risulta addirittura sostituita in ampie zone dal tessuto di granulazione (fig. 6). In questo tessuto sono scarsi i linfociti, mentre risultano piuttosto numerose le cellule giganti tipo Langhans. Nei casi senza splenomegalia, le alterazioni non sono costanti. Talora si osservano proliferazioni di cellule istioidi molto limitate, talora un quadro di modica iperplasia diffusa del connettivo.

Anche nel fegato le alterazioni istologiche sono numerose ed evidenti. Il disegno dell'organo è spesso sovvertito dalla presenza di focolai di gra-

nulazione che presentano aspetto diverso riguardo alla forma, alla estensione e alla composizione citologica (fig. 7). Alcuni focolai risultano costituiti da tessuto compatto formato da elementi allungati a tipo epitelioidi, fittamente stipati; altri, invece, si presentano come un agglomerato di cellule rotondeggianti od ovalari, a citoplasma abbondante, acidofilo, con nucleo evidente e con alone ipercromico di demarcazione più o meno pronunciato alla periferia della cellula stessa (fig. 8). Tali elementi sono stati spesso dissociati fra loro, così da risulturne un tessuto scarsamente compatto. Si rileva inoltre nel fegato, la presenza di frequenti aree di necrosi più o meno estese (fig. 9), oltre a disturbi di circolo rappresentati da aree con forte replezione e dilatazione capillare. Il parenchima si dimostra in più punti con cellule rigonfiate e vacuolizzate per degenerazione torbido-grassa. Anche nei casi senza alterazioni a focolaio macroscopicamente rilevabili, è stato possibile osservare piccoli focolai flogistici nel tessuto, con caratteristiche strutturali identiche a quelle ora riferite.

Nel rene e nel cuore, istologicamente scarsi focolai flogistici a tipo nettamente interstiziale, spesso costituiti da aggruppamenti linfocitari con qualche cellula istioide. Gli elementi parenchimali presentano (rene) frequenti alterazioni degenerative in genere a tipo albuminoso.

A carico delle linfoghiandole l'alterazione è notevolmente interessante e presenta caratteristiche identiche a quelle riscontrate nella milza. Si rileva una più o meno diffusa proliferazione di elementi grandi, rotondeggianti od ovalari, che infiltrano il tessuto linfoadenoidale ed in alcuni punti lo sostituiscono con formazione di focolai; nell'interno di questi, o nelle loro vicinanze, esistono talvolta cellule giganti abbastanza caratteristiche. Gli elementi di proliferazione si distinguono bene dai linfociti per forma, grandezza e tingibilità.

Nel solo caso, in cui abbiamo trovato lesioni nelle ghiandole surrenali, si è rilevato un disfacimento necrotico ampio e tale da interessare completamente la midollare e buona parte della corticale. Al limite col tessuto sano esisteva un alone flogistico con cellule di diverso tipo, ma senza polimorfonucleati.

Concludendo, il ceppo Battaglini provoca una reazione dei tessuti prevalentemente orientata verso quella di tipo granulomatoso con alcuni requisiti morfologici che ricordano quelli patogenomici della tubercolosi (necrobiosi di tipo caseoso, reazione epitelioidi, formazione di cellule di tipo Langhans); tuttavia è possibile distinguere una forma di reazione a carattere più squisitamente essudativo (alveolite, broncoalveolite, polmonite) senza caratteri patogenomici; una seconda forma di tipo più decisamente produttivo (centri nodulari di tipo epitelioidi, alveoliti epitelioidi, ecc.); una terza forma di tipo decisamente granulomatoso nodu-

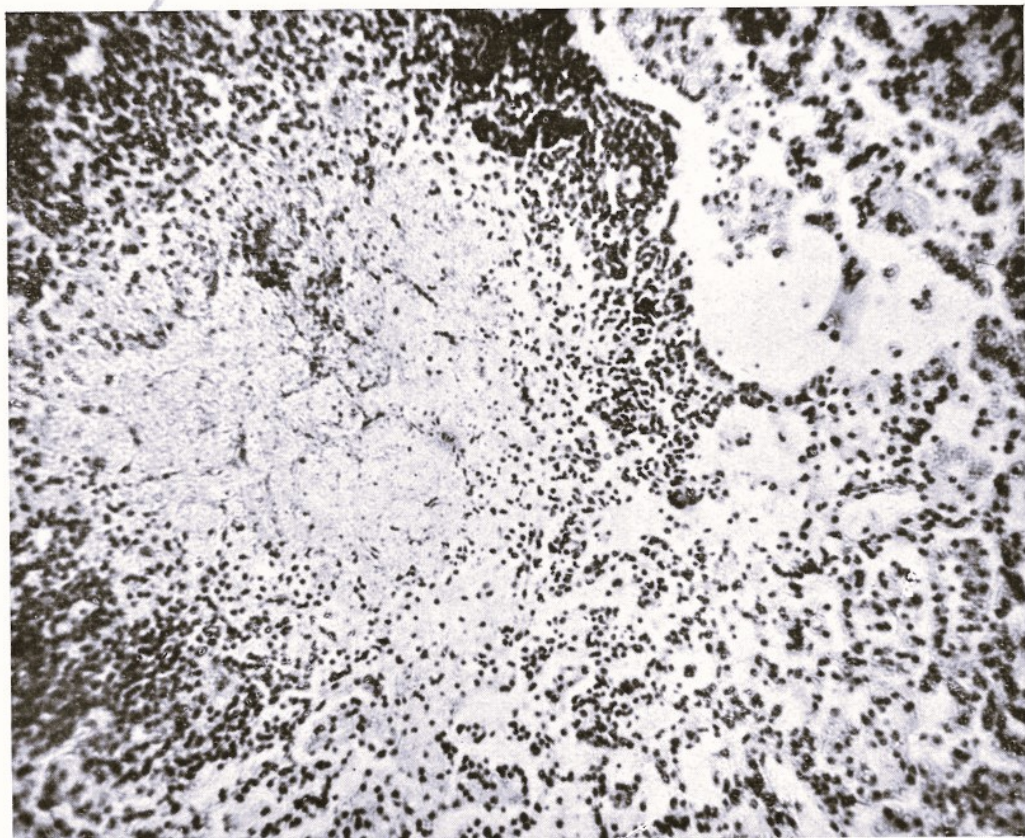


Fig. 1 - *Polmone*: focolaio infiammatorio con disfacimento necrobiotico a tipo caseoso.

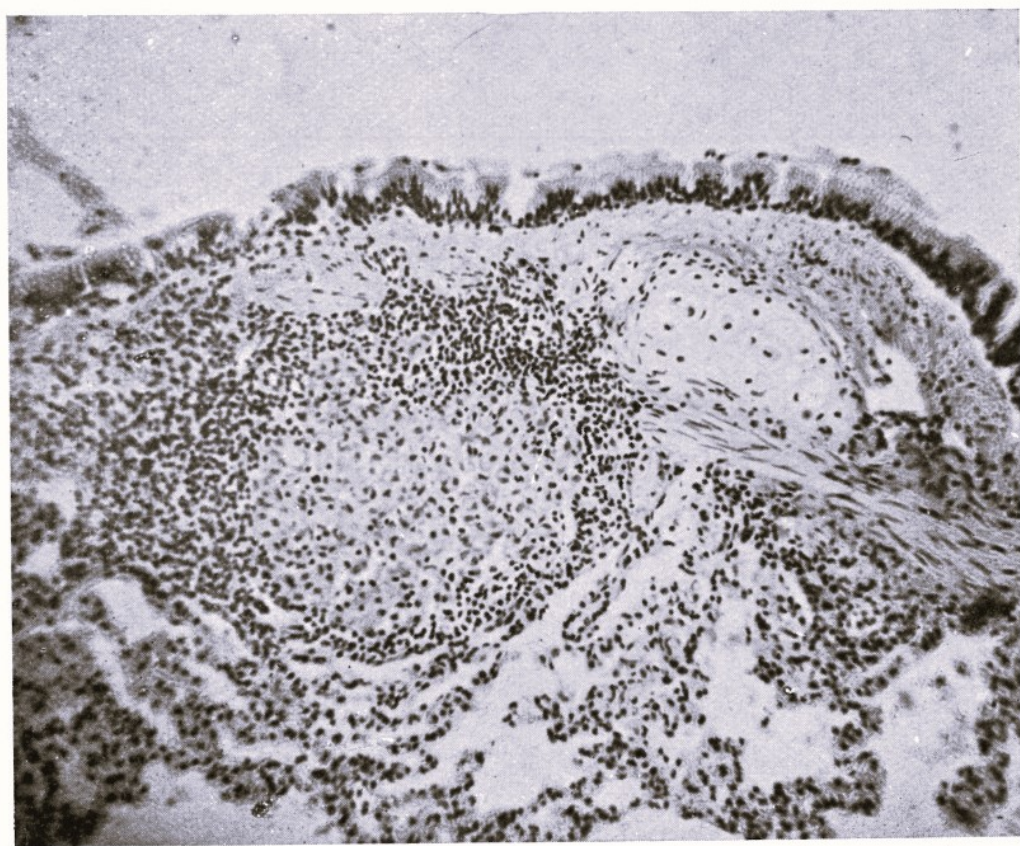


Fig. 2 - *Polmone*: focolaio granulomatoso aderente alla parete bronchiale.

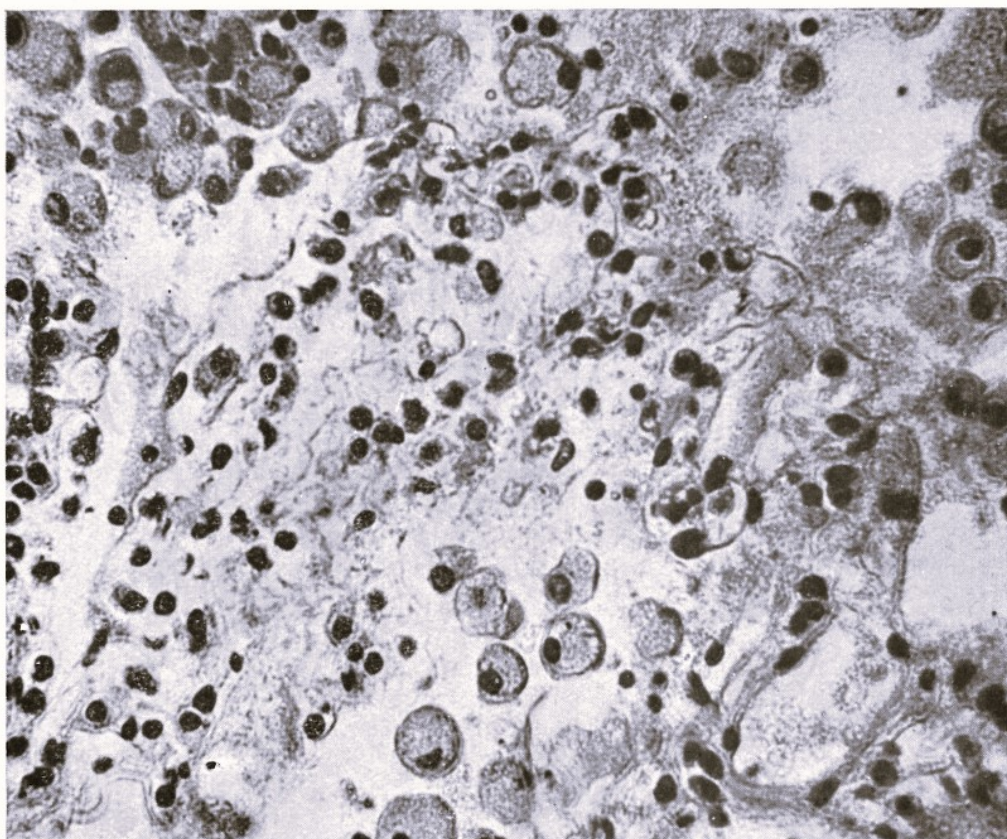


Fig. 3 - *Polmone*: elementi di flogosi essudativa nell'interno delle cavità alveolari: cellule rotondeggianti con abbondante citoplasma e con alone periferico di demarcazione.

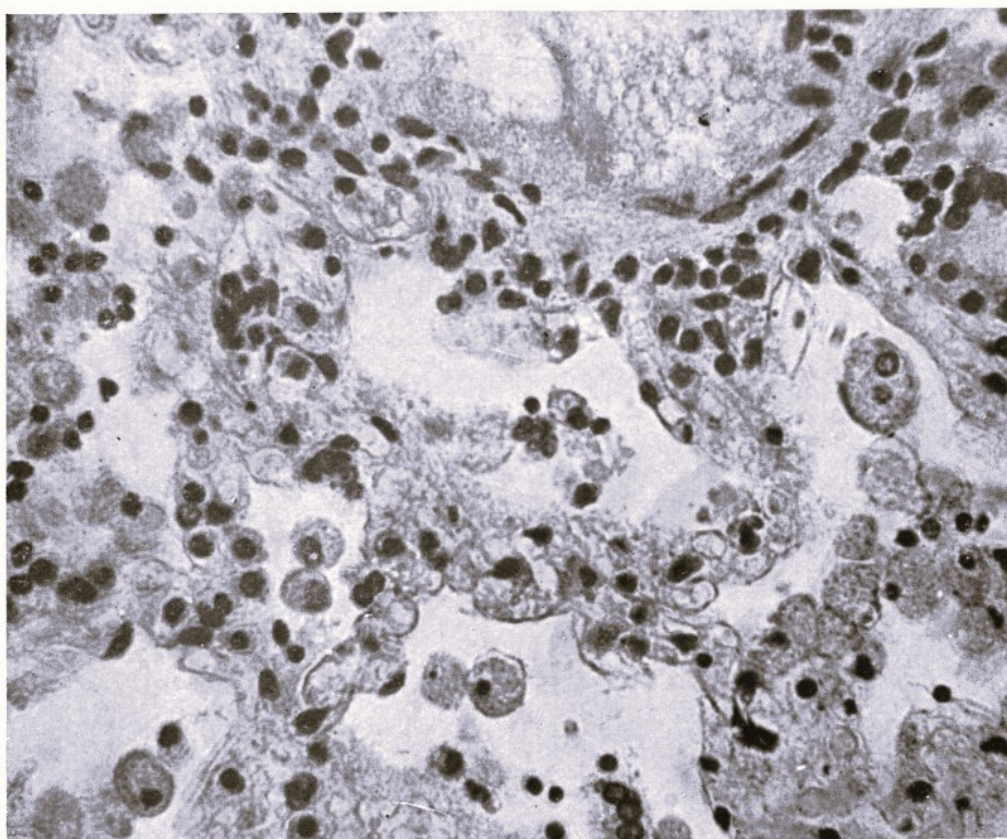


Fig. 4 - *Polmone*: elementi di flogosi come nella figura precedente.

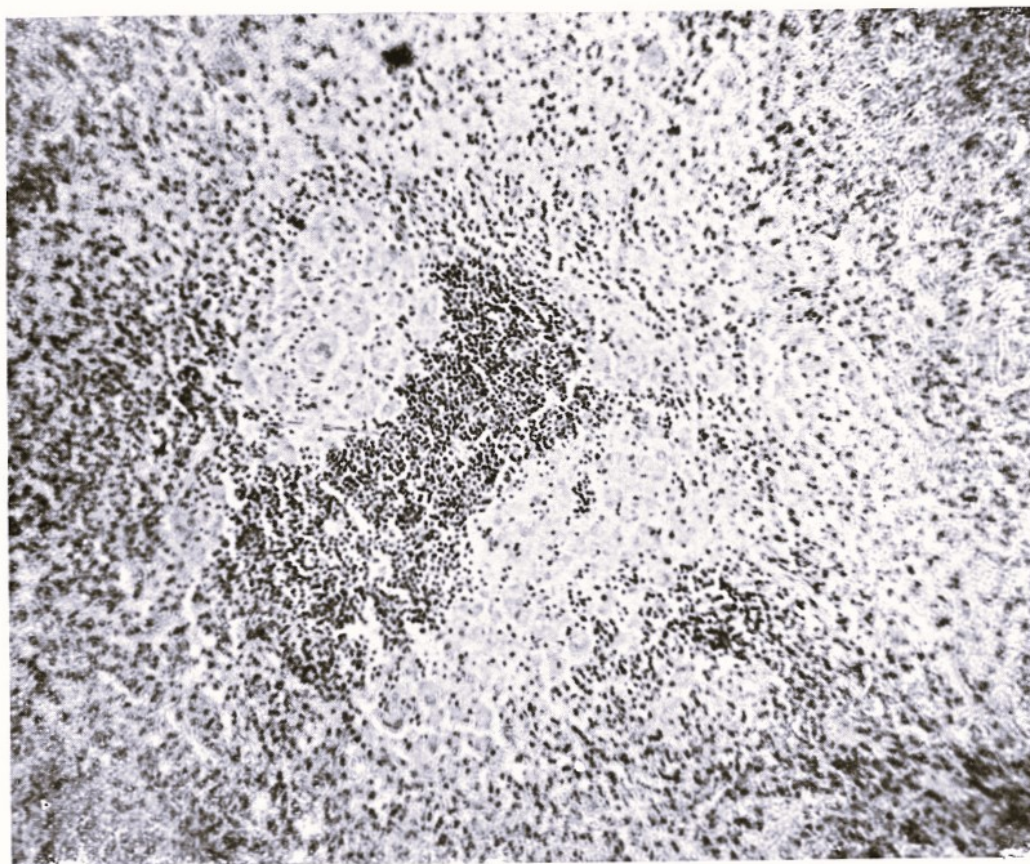


Fig. 5 - *Milza* : infiltrazione granulomatosa diffusa.

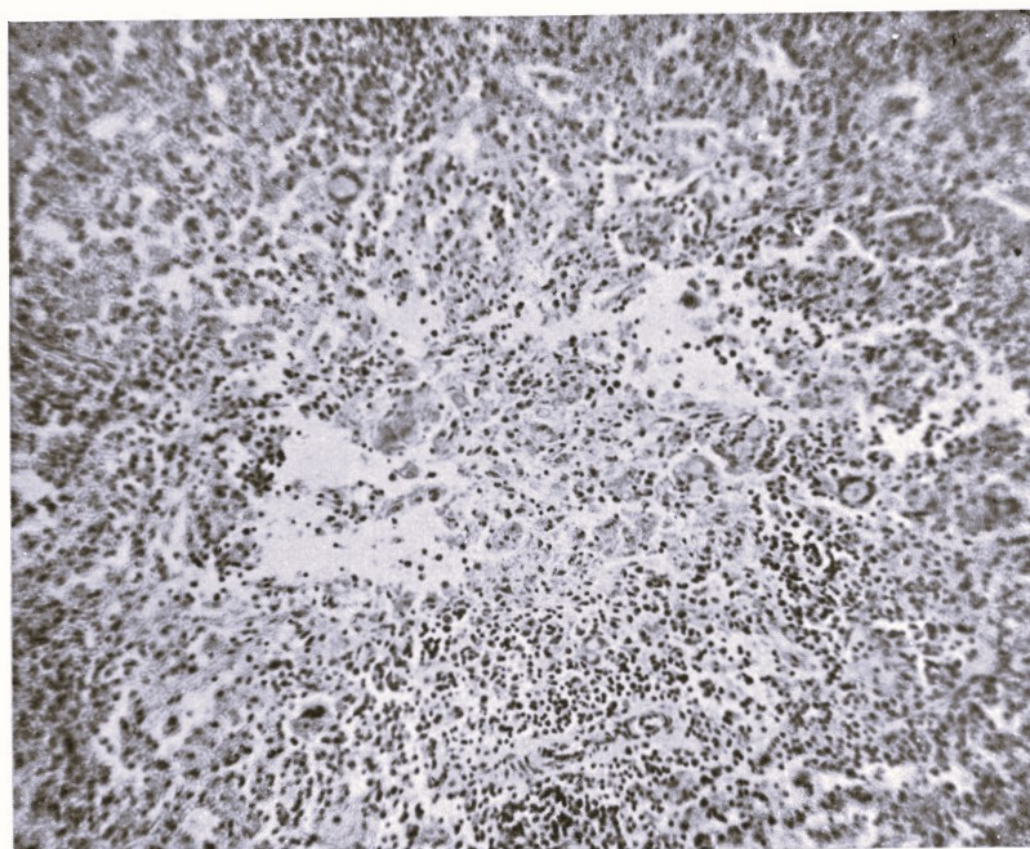


Fig. 6 - *Milza* : tessuto granulomatoso con cellule giganti.

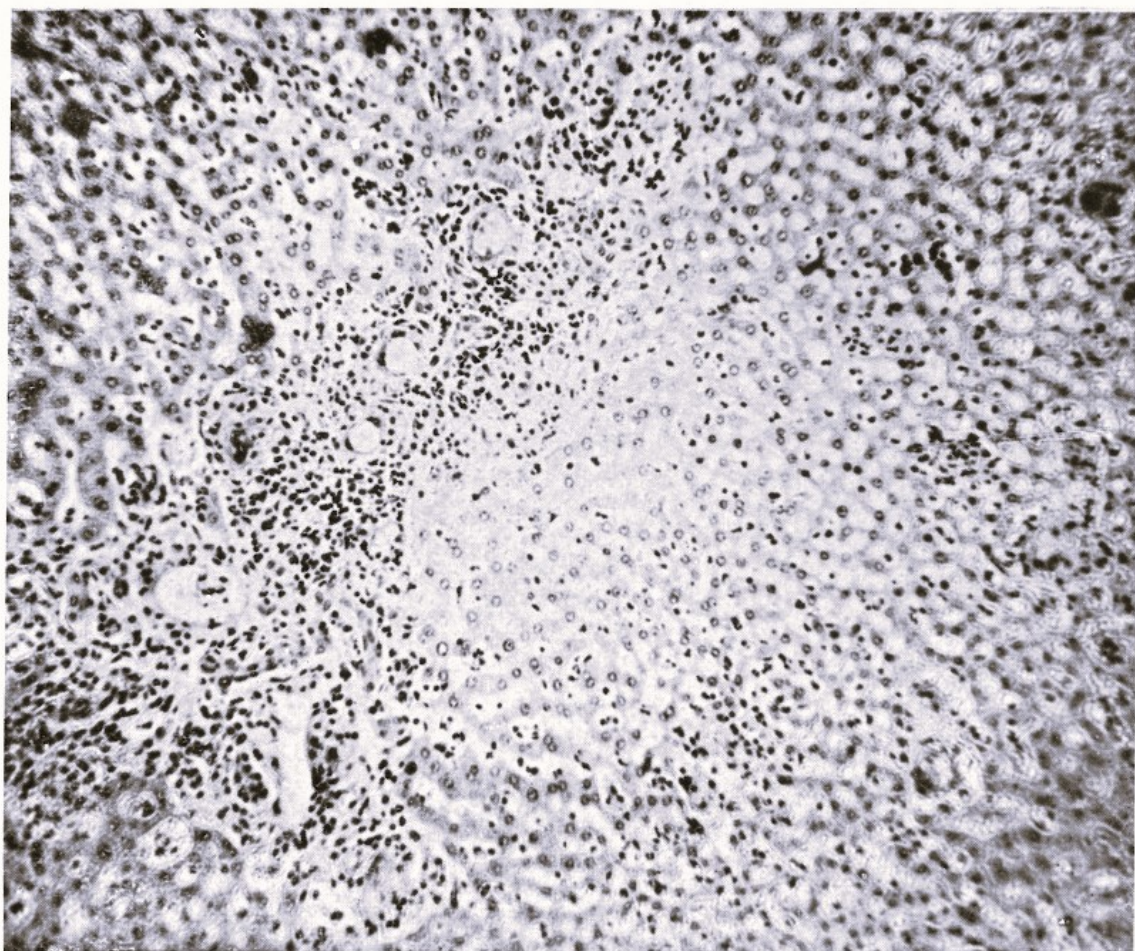


Fig. 7 - *Fegato* : infiltrazione granulomatosa.

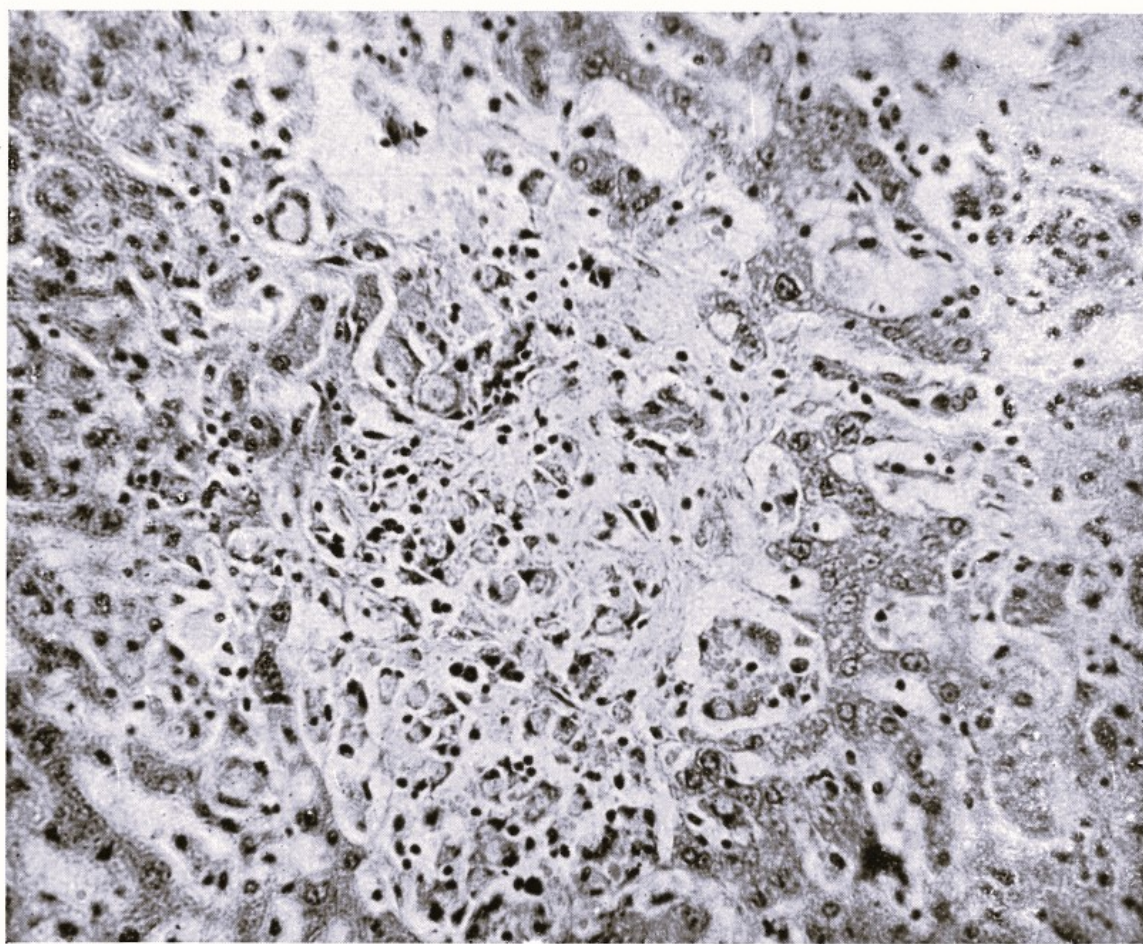


Fig. 8 - *Fegato* : tessuto di granulazione con elementi rotondeggianti forniti di alone ipercromico di demarcazione (vedi anche figg. 3 e 4 del polmone).

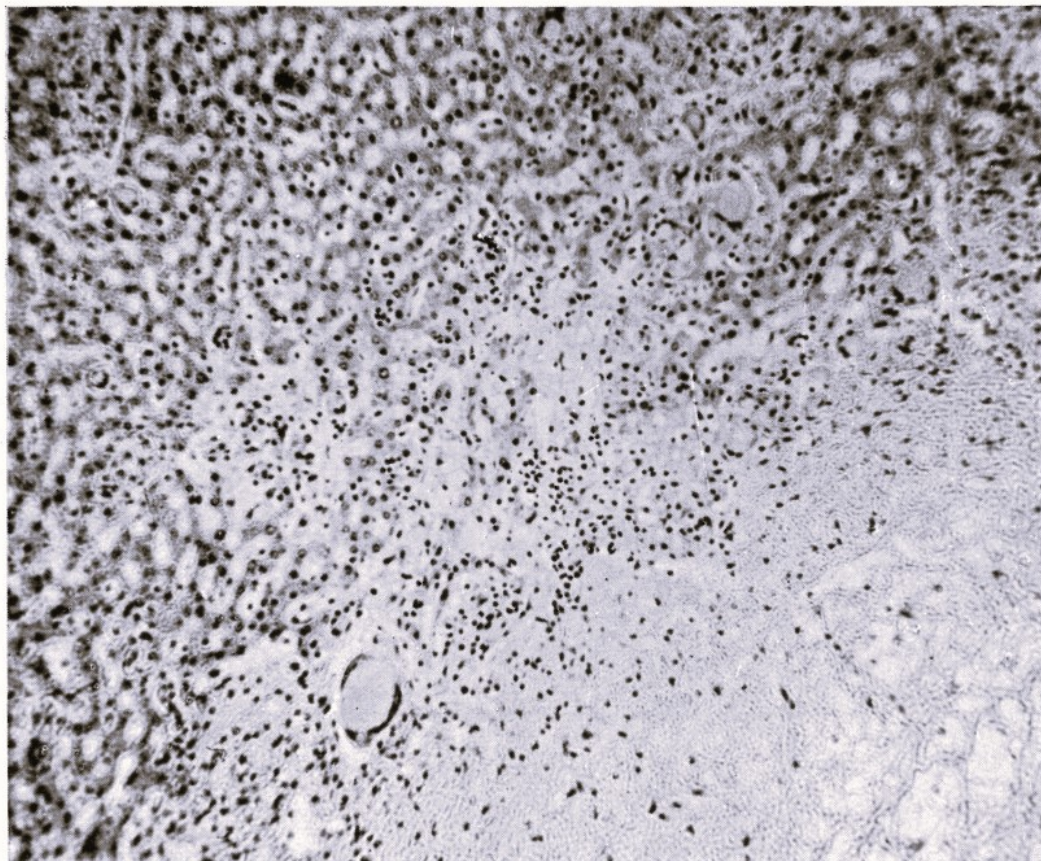


Fig. 9 - *Fegato*: area di necrosi circoscritta da tessuto reattivo con cellule giganti.

lare con centro necrobiotico e reazione periferica iperplastica epitelioidale e gigantocellulare. Le tre forme possono essere associate o disgiunte nei diversi tessuti ed organi. Come ogni forma granulomatosa non ha in sè alcun elemento morfologico specifico (la specificità essendo insita nello stretto rapporto tra antigene e citoreazione submicroscopica), e forse neppure alcun elemento patognomonico in quanto facilmente si può confondere con altre reazioni granulomatoze e particolarmente con quella tubercolare; con questa ha di comune soprattutto un processo necrobiotico che probabilmente è legato a frazioni della struttura bacillare ad azione prevalentemente disintegrativa necrotica.

Roma. — Istituto Superiore di Sanità. - Laboratorio di Microbiologia.
12 maggio 1949.
