

69. Gina CASTELNUOVO, Vittorio ORTALI e Giuseppe PENSO. — Studi e ricerche sui micobatteri. — Nota IV. Tubercolosi sperimentali sulla membrana corioallantoidea dell'embrione di pollo da determinati ceppi di tubercolare aviario.

Riassunto. — Inoculando una sospensione di tubercolare aviario sulla membrana corioallantoidea dell'embrione di pollo, è stato ottenuto risultato positivo, con formazione di noduli e tubercoli visibili macroscopicamente, soltanto in cinque casi e precisamente con i ceppi Cow 18, Cow 19, Cow 70, Cow 75 e Goring, ceppi che — come si riferirà in ulteriori pubblicazioni — hanno un proprio particolare metabolismo del carbonio, un proprio e caratteristico comportamento al P.A.S., sono lisati da un fago su loro indotto.

Résumé. — L'inoculation d'une suspension de bacilles tuberculeux aviaires sur la membrane chorio-allantoïde de l'embryon de poulet a donné une réaction positive, avec formation de nodules et tubercules macroscopiquement visibles, dans cinq cas seulement, avec les souches Cow 18, Cow 19, Cow 70, Cow 75 et Goring, qui, comme il sera décrit dans des mémoires successifs, ont un particulier métabolisme du carbone, qui leur est propre, et présentent aussi un comportement caractéristique particulier envers le P.A.S., et qui en outre sont lysées par un phage entraîné sur elles.

Summary. — The inoculation of a suspension of avian tubercle bacilli into the chorio-allantoic membrane of chick embryo has been investigated. Only five cases out of forty show macroscopic nodules and tubercles. These five strains are Cow 18, Cow 19, Cow 70, Cow 75 and Goring. These strains, as will be reported in further papers, have a particular carbon metabolism of their own, show also a peculiar behaviour of their own towards P.A.S., and are lysed by a phage induced thereon.

Zusammenfassung. — Die Inokulierung einer Suspension von Vogel-tuberkelbazillen in das Chorion-Allantoismembran des Hühnerembryos hat nur in fünf Fällen ein positives Resultat, unter Bildung von makroskopisch sichtbaren Knötchen und Tuberkeln, ergeben, nämlich mit den Stämmen Cow 18, Cow 19, Cow 70, Cow 75 und Goring, welche, wie es in weiteren Mitteilungen berichtet werden wird, einen eigenen besonderen Kohlenstoffmetabolismus und ein ganz eigentümliches Verhalten gegen P.A.S. aufweisen, ferner von einem auf sie getragenen Phagus lysiert werden.

Nel quadro degli studi che da tempo andiamo facendo sul genere *Mycobacterium* — per determinare, identificare e classificare le specie che lo compongono —, si inseriscono le presenti ricerche che tendono a dimostrare il particolare comportamento di alcuni ceppi di *Mycobacterium avium* dimostratisi patogeni per la membrana corioallantoidea dell'embrione di pollo.

Che la membrana corioallantoidea fosse sensibile all'azione dei micobatteri, era un fatto già conosciuto e descritto da molti Autori: Goodpasture e Anderson (1937); Costil e Bloch (1938); Emmart e Smith (1941 e 1943); Moore (1942); Canat e Opie (1943); Fite e Olson (1944); Lee e Stawitsky (1947) avevano constatato, infatti, come la membrana corioallantoidea rispondesse all'inoculazione dei tubercolari con fochi infiammatori nel mesenchima. D'altro canto, alcuni dei citati Autori concludevano le loro ricerche ammettendo (Moore, Emmart e Smith) l'esistenza di una relazione ben precisa fra virulenza dei bacilli inoculati e loro capacità a produrre sulle membrana lesioni specifiche, mentre altri (Fite e Olson) negavano questo rapporto.

Noi non vogliamo entrare nel merito di questa discussione, tanto più che, con la tecnica da noi eseguita, e di cui diremo tra poco, non siamo mai riusciti ad ottenere lesioni macroscopiche con i micobatteri saggiati sia tubercolari che paratubercolari, salvo che con cinque ceppi di aviario di cui diremo in appresso.

Ecco la tecnica praticata.

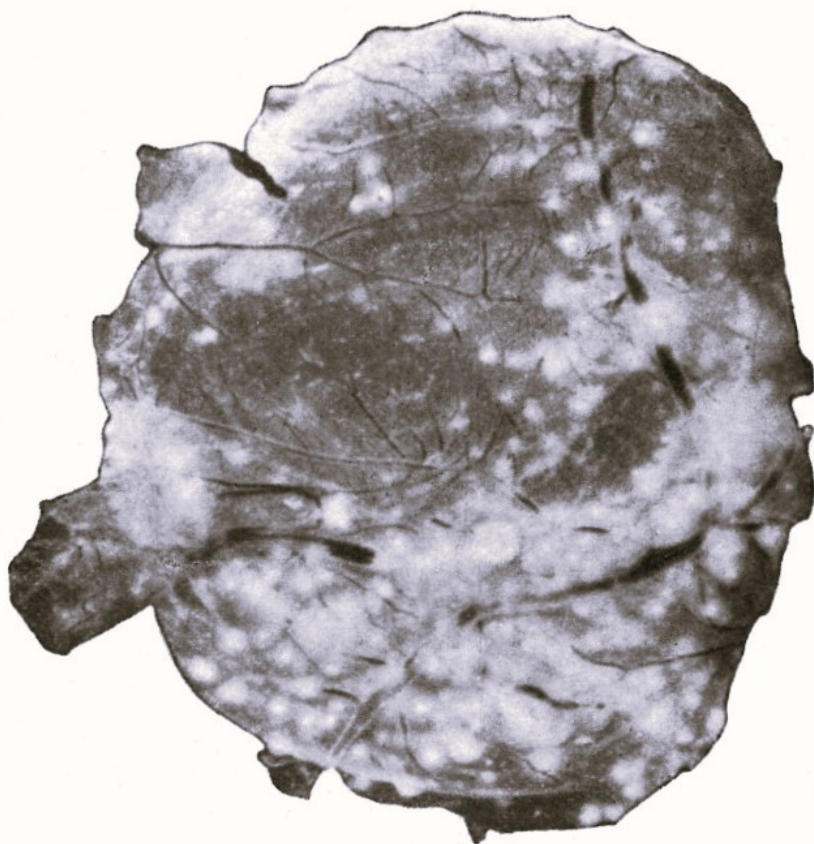
Uova embrionate, in settima giornata d'incubazione, venivano incise circolarmente, a poca distanza da un polo, sì da poter togliere loro la calotta giusto al di sopra della camera d'aria. Sulla membrana corioallantoidea, così messa allo scoperto, veniva deposta una goccia di una sospensione omogenea, in soluzione fisiologica e a titolo noto, del micobatterio in esame. La breccia praticata veniva chiusa con un quadratino di celofane adesivo, e l'uovo rimesso a incubare in termostato a 37° C sino al 15° giorno, dopo di che si toglieva il celofane, si esaminava l'aspetto delle membrana e la si fissava *in situ* con una soluzione di formalina al 10%; veniva, quindi, recisa e trattata con la solita tecnica istologica sino ad averne sezioni di 5 micron colorate con vari metodi.

Con tale tecnica, non ottenemmo nulla di particolarmente appariscente con i vari micobatteri che si moltiplicavano sì sulla membrana — come avremo occasione di accennare in altre pubblicazioni —, ma non davano mai lesioni rivelabili macroscopicamente.

Tali lesioni, invece, le ottenemmo con alcuni ceppi classificati nella nostra collezione come aviari, fatto che ci spinse a saggiare il potere patogeno, sulla membrana corioallantoidea, di tutti gli aviari, o ritenuti tali, in nostro possesso.

Riunimmo, così, 34 ceppi di *Mycobacterium avium* provenienti da diverse collezioni italiane e straniere. Di questi 34 ceppi soltanto *cinque* furono capaci di dare sulla membrana lesioni macroscopiche di aspetto nettamente nodulare e tubercolare colle dosi usate.

Tali lesioni che qui, data la finalità che per il momento ci proponiamo, descriveremo di sfuggita, ma che uno di noi (Castelnuovo) descriverà a suo tempo in tutti i loro particolari istopatologici, sono caratterizzate



da ispessimento e opacamento della membrana sulla quale si notano numerosi noduli, simili a tubercoli, a volte grandi e visibili attraverso la breccia praticata nel guscio, a volte più piccoli sino alla dimensione di una testa di spillo. Tali noduli, perfettamente circoscritti, sono presenti sia lungo i vasi che lontano da essi, sono di colorito biancastro, di consistenza cremosa e cominciano ad apparire dopo tre giorni dalla inoculazione.

Istologicamente, le lesioni sono a carico dell'epitelio e del mesenchima, mentre l'entoderma non è mai colpito. Nelle lesioni si riscontrano i micobatteri.

Non vogliamo, abbiamo detto, intrattenerci qui sull'aspetto e la natura delle lesioni riscontrate, vogliamo, invece, attrarre l'attenzione sul fatto che soltanto cinque ceppi di aviario — o ritenuti tali — hanno dato lesioni del genere, mentre gli altri aviari — o ritenuti tali — non hanno

mai dato lesioni macroscopiche, ma solo microscopiche e interessanti soltanto l'epitelio e raramente il mesenchima.

I cinque ceppi in questione sono il Cow 18, il Cow 19, il Cow 70, il Cow 75 e il Goring, tutti provenienti dalla *National Type Culture Collection* di Londra.

Il fatto è tanto più interessante quando si saprà, come vedremo in altre pubblicazioni, che questi cinque aviari hanno un proprio e caratteristico metabolismo del carbonio, hanno un proprio e caratteristico comportamento verso il P.A.S., sono lisati da un fago su loro indotto.

Tutto ciò fa sospettare che nella specie *Mycobacterium avium* (Chester 1901) sia da contraddistinguersi un gruppo a individualità propria, gruppo che merita di essere ulteriormente studiato per determinarlo nei suoi limiti e individuarlo nella sua specificità.

Roma. — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Microbiologia.
24 ottobre 1949.

BIBLIOGRAFIA

- CANAT E. H. e OPIE E. L., Inflammation in embryonic life; infection of chick embryos with avian tubercle bacilli, *Am J. Path.*, 19, 385 (1943).
- COSTIL L. e BLOCH F., Réactions de la membrane chorio-allantoïde de l'embryon de poulet aux bacilles tuberculeux humains et aviaires, *C.R.S.B.*, 128, 40 (1938).
- EMMART E. W. e SMITH M. I., Growth and effects of tubercle bacillus on chorio-allantoic membrane of chick embryo; method for studies in chemotherapy, *Publ. Health Rep.*, 56, 1277 (1941).
- EMMART E. W. e SMITH M. I., Chorio-allantoic membrane of chick embryo as medium for testing virulence of tubercle bacilli, *Am. Rev. Tub.*, 47, 426 (1943).
- FITE G. L. e OLSON B. J., Infectivity of mycobacteria for chorio-allantoic membranes of chick embryos, *Publ. Health Rep.*, 59, 1423 (1944).
- GOODPASTURE E. W. e ANDERSON K., Problem of infection as presented by bacterial invasion of chorio-allantoic membrane of chick embryos, *Am. J. Path.*, 13, 149 (1937).
- LEE H. F. e STAWITSKY A. B., Intravenous infection of chick embryo with tubercle bacilli; inhibitory effects of streptomycin, *Am. Rev. Tub.*, 55, 262 (1947).
- MOORE M., Chorio-allantoic membrane of chick embryos and its response to inoculation with some Mycobacteria, *Am. J. Path.*, 18, 827 (1942).
-