

Sulla trasduzione di alcuni caratteri metabolici negli stafilococchi

SILVANA ALBERTI, VITTORIO ORTALI e ERNESTO J. SALAS (*)

Laboratori di Microbiologia

Riassunto. — Impiegando un terreno completamente sintetico, costituito da 17 aminoacidi, acido nicotinico, tiamina, glucosio e sali minerali, gli AA. hanno studiato la trasduzione di alcuni caratteri metabolici e della resistenza alla streptomicina in *Staphylococcus aureus* NCTC 8511.

I tre marcatori impiegati (indipendenza dall'acido glutamico e dalla leucina, resistenza alla streptomicina) vengono trasdotti sia singolarmente che due a due dal fago 53 (NCTC 8406), impiegato per lisogenizzare il ceppo 8511.

Non si è riusciti ad ottenere il passaggio contemporaneo di tutti e tre i caratteri.

Summary. — By means of a fully synthetic medium, consisting of 17 amino acids, nicotinic acid, thiamine, glucose and mineral salts, the transduction of some metabolic characters and streptomycin resistance has been investigated in *Staphylococcus aureus* NCTC 8511.

The three markers adopted (glutamic acid and leucine independence, streptomycin resistance) were transduced alone or by couples by phage 53 (NCTC 8406), used to lysogenize strain 8511.

The joined transfer of the three markers could not be obtained.

Nel 1961, RITZ e BALDWIN riuscirono a trasdurre il carattere penicillinasi in *Staphylococcus aureus* (1).

Nel 1959 MORSE (2), EDGAR e STOCKER (3), DOWELL e ROSEMBLUM (4) avevano già descritto la possibilità di trasdurre la resistenza a vari antibiotici.

PATTEE e BALDWIN (5) riportarono poi che con i fagi 29, 52 A, 79, 80 e 53 si potevano trasdurre sia la capacità di produzione di penicillinasi che la resistenza.

(*) Ospite dei Laboratori di Microbiologia.

La mancanza di un terreno sintetico definito che permettesse di isolare i mutanti metabolici, ha limitato lo studio della trasduzione degli Stafilococchi ai caratteri di resistenza agli antibiotici e a qualche carattere metabolico facilmente evidenziabile come, per esempio, la fermentazione degli zuccheri (6, 7).

Le difficoltà che s'incontrano nel corso di questa indagine sono dovute a due fattori fondamentali:

a) manca un terreno esattamente definito e capace di far crescere con una efficacia di piastramento del 100 % i ceppi di Stafilococco;

b) i ceppi di Stafilococco sono estremamente ricchi di differenti profagi di modo che, in tutti i fenomeni di scambio, è difficile escludere la presenza di fagi o d'individuare quali fagi siano intervenuti.

Noi abbiamo ritenuto di poter superare la prima difficoltà ricorrendo a un terreno di coltura completamente sintetico costituito da 17 aminoacidi, da acido nicotinico, tiamina, sali minerali e glucosio.

Anche EDGAR e STOCKER hanno impiegato un terreno minimo sintetico, ma le loro esperienze si limitavano ai soli *wild types* (8).

MATERIALI E METODI

Terreni: agar comune; brodo comune; terreno sintetico definito costituito da cm³ 20 di agar purificato al 3 % (special agar Noble-Difco) e da:

alanina	soluzione	1 %	ml	0,2/ piastra di Petri
arginina	»	»	» 0,2	» »
asparagina	»	»	» 0,5	» »
cisteina	»	»	» 0,1	» »
fenilalanina	»	»	» 0,2	» »
ac. glutamico	»	»	» 0,5	» »
glicina	»	»	» 0,5	» »
idrossiprolina	»	»	» 0,5	» »
istidina	»	»	» 0,2	» »
leucina	»	»	» 0,5	» »
metionina	»	»	» 0,1	» »
prolina	»	»	» 0,5	» »
serina	»	»	» 0,1	» »
tirosina	»	»	» 0,2	» »
treonina	»	»	» 0,1	» »
triptofano	»	»	» 0,1	» »
valina	»	»	» 0,1	» »
ac. nicotinico	»	0,005 %	» 0,5	» »
tiamina	»	»	» 0,1	» »
sodio cloruro	»	10 %	» 0,2	» »
ammonio nitrato	»	»	» 1,0	» »
ferro solfato	»	1 %	» 0,1	» »

sodio glicerofosfato	soluzione	20 %	ml	0,5/piastra di Petri
magnesio solfato	»	6 %	»	0,1 » »
sodio bicarbonato	»	8 %	»	0,1 » »
glucosio	»	10 %	»	0,5 » »
tampone fosfato			»	0,5 » »

Il tampone fosfato veniva preparato sciogliendo g 12 di fosfato bisodico (Na_2HPO_4) e g 2,4 di fosfato monopotassico ($\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) in 100 ml di acqua distillata.

Streptomicina: soluzione madre corrispondente a 20 mg/ml.

Soluzione fisiologica tamponata pH 7,2;

Desossiribonucleasi: soluzione corrispondente a 1 mcg/ml;

Siero antifago 8406. [I sieri venivano preparati secondo la tecnica di SETO e coll. (9)];

Stipiti batterici accettori: *Staphylococcus aureus* NCTC 8511;

Stipiti batterici donatori: mutanti di *Staphylococcus aureus* NCTC 8511 resistenti alla Streptomicina (*Str-r*) 1 mg/ml, ac. glutamico indipendenti (*Glu+*), leucina indipendenti (*Leu+*);

Batteriofagi: 8406 (fago 53) impiegato per lisogenizzare il ceppo 8511.

Sia gli stipiti batterici trasducenti che quelli riceventi venivano clonati.

La selezione dei resistenti alla streptomicina era eseguita su terreno solido in piastre di agar comune con aggiunta di streptomicina fino alla concentrazione finale di 1 mg/ml.

La lisogenizzazione del ceppo 8511 era eseguita ugualmente su terreno solido strisciando con una spatolina di vetro su piastre di agar comune con aggiunta di 0,1 ml di una soluzione al 10 % di CaCl_2 , ml 0,1 di brodocoltura di 12 h del ceppo da lisogenizzare e aggiungendo la stessa quantità di fago omologo, sempre strisciando con una spatolina di vetro.

L'avvenuta lisogenizzazione veniva controllata coltivando le colonie risultate resistenti al fago, per 12 h a 37°C, centrifugando e provando il sopranatante per la produzione di fago.

I mutanti *Glu+* e *Leu+* del ceppo trasducente 8511 venivano isolati allestendo piastre di terreno sintetico definito senza acido glutamico o senza leucina; su tale terreno venivano strisciati con una spatolina di vetro 0,1 ml di sospensione batterica ottenuta da una coltura in agar di 18 h lavata per tre volte in soluzione fisiologica tamponata a pH 7,2.

I mutanti venivano isolati in due passi mutazionali: ottenuto cioè il mutante *Glu+* si procedeva da questo per l'isolamento del mutante *Leu+* (*Glu+* → *Glu+ Leu+*).

Per la produzione dei lisati fagici venivano fatte sedimentare per centrifugazione circa 10^{10} cellule di una brodocoltura incubata per 12 h, in posizione stazionaria e per 4 h in agitazione, secondo quanto descritto da MORSE (2). Risospese in soluzione fisiologica tamponata, queste cellule veni-

vano irradiate per 40'' con una lampada a raggi ultravioletti da 15 w 110 v con il 90 % di emissione a 4650 Å in piastra di Petri aperta e leggermente agitata, posta a 46 cm di distanza dalla lampada.

Le sospensioni irradiate, erano versate in provetta ed a queste veniva aggiunto 1 ml di brodo concentrato 10 X.

Tali sospensioni messe a incubare per 4-6 h, si presentavano in genere chiarificate allo scadere del tempo.

I lisati erano centrifugati e poi filtrati per filtro Millipore HA (0,45 µ). Su tali filtrati veniva eseguito un controllo di sterilità.

Le cellule dell'accettore derivate da una coltura in agar di 18 h, venivano sospese in soluzione fisiologica tamponata, centrifugate e quindi lavate per tre volte sempre in soluzione fisiologica tamponata. Per l'esperienza di trasduzione le cellule così lavate venivano sospese in un campione di filtrato fagico.

I controlli erano eseguiti mettendo a contatto cellule accettrici e brodo nutritivo.

La molteplicità d'infezione veniva controllata numerando il fago su agar-patina su NCTC 8511, ceppo *wild*.

I miscugli venivano incubati a 37°C per tempi diversi 5'; 10'; 25'.

Allo scadere di ciascun tempo venivano prelevati campioni per controllare: la carica batterica dell'accettore; la carica batterica del miscuglio; la carica fagica.

ml 0,1 di tali campioni venivano piastrati su terreno sintetico definito Glu^- , Leu^- , Str^+ e su terreno sintetico completo con aggiunta di Streptomina.

RISULTATI

Per induzione ultravioletta si sono preparati fagi capaci di trasdurre i seguenti caratteri: $Str-r$; Glu^+ ; Leu^+ .

Abbiamo ottenuto la trasduzione di due caratteri mutazionali contemporaneamente: Glu^+ , Leu^+ , ma non siamo riusciti a trasdurre in una sola esperienza anche $Str-r$. $Str-r$ passava nella cellula accettrice insieme a Glu^+ o a Leu^+ . La frequenza di cellule trasdotte ottenuta in ogni esperienza variava in rapporto al carattere trasdotto oscillando tra 10^{-8} e $3,7 \times 10^{-10}$ (tab. 1). L'optimum di contatto si verificava dopo 10' d'incubazione. Per quello che riguarda $Str-r$ abbiamo osservato come già descritto da DAVIS⁽¹⁰⁾ che in seguito all'impiego della tecnica del *delayed phenotypic expression* la frequenza di trasduzione aumentava fino a 10^{-6} .

I cloni trasdotti non dimostravano capacità di trasdurre ad alta frequenza (HFT) i caratteri ricevuti⁽¹¹⁾.

TABELLA I

Caratteri trasdotti e frequenza di trasduzione
 Lisato fagico da *Staph. aureus* NCTC 8511 (*Str-r Glu⁺ Leu⁺*).
 Accettore: *Staph. aureus* NCTC 8511 *Str-s Glu⁻ Leu⁻*

CARATTERE TRASDOTTO	<i>Str-r</i>	<i>Leu⁺</i>	<i>Glu⁺</i>	<i>Str-r Leu⁺</i>	<i>Str-r Glu⁺</i>	<i>Str-r Leu⁺ Glu⁺</i>	<i>Leu⁺ Glu⁺</i>
Frequenza di trasduzione per cellula accettrice	3×10^{-9}	$1,3 \times 10^{-10}$	$3,7 \times 10^{-10}$	10^{-8}	$1,6 \times 10^{-10}$	0	$1,2 \times 10^{-9}$
N° placche fagiche/ml ottenute su NCTC 8511 <i>wild.</i> . .	3×10^6	2×10^8	5×10^8	2×10^7	6×10^8	2×10^7	5×10^8
N° cellule accettrici/ml . .	10^9	3×10^{10}	8×10^9	6×10^8	6×10^9	2×10^9	2×10^9

L'efficacia di trasduzione veniva annullata quando si aggiungeva al miscuglio lisato-fagico + cellule accettrici, siero antifago 8406.

L'aggiunta di desossiribonucleasi non inibiva la trasduzione.

Le colonie trasdotte venivano controllate per i seguenti caratteri: tipizzazione fagica; produzione di fago; resistenza agli antibiotici; capacità di sviluppo su terreni senza acido glutamico e senza leucina.

Dato che i ceppi di Stafilococco da noi impiegati come donatori erano polilisogeni, abbiamo voluto evidenziare la presenza di profagi portati dal « donatore » prima e dopo l'esperienza di trasduzione, onde escludere, almeno su base teorica, l'intervento di altri fagi nell'esito della esperienza.

Sia il clone accettore 8511 che il clone donatore 8511 *Str-r, Glu⁺, Leu⁺*, sia le cellule trasdotte hanno presentato un uguale *typing pattern*: fagi 53, 75, 77 e un'uguale lisogenesi marcata dai fagi: 6, 7, 47, 54, 83A.

CONCLUSIONI

La mancanza di un terreno completamente sintetico e capace di consentire una elevata efficacia di piastramento è uno dei motivi fondamentali che ha limitato gli studi sulla genetica degli Stafilococchi specialmente per quanto riguarda i caratteri metabolici.

Partendo da un terreno che noi reputiamo soddisfacente, è stata studiata la trasduzione di alcuni caratteri metabolici e della resistenza alla streptomicina.

I tre caratteri studiati: *Glu*⁺, *Leu*⁺ e *Str-r* vengono trasdotti dal fago 53 (NCTC 8406) sia singolarmente che a due a due.

Non siamo riusciti ad avere il passaggio contemporaneo dei tre caratteri nè a mettere in evidenza un *linkage* tra di essi.

La trasduzione non è il metodo più semplice per individuare la disposizione dei geni sul genoma ; in questa direzione, la coniugazione ha possibilità ben maggiori, ma non ci risulta che per ora tali fenomeni siano stati messi in evidenza per gli Stafilococchi.

27 novembre 1963.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) RITZ H. L. e BALDWIN J. N. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 107, 678 (1961).
- (²) MORSE M. L. - Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 45, 722 (1959).
- (³) EDGAR J. e STOCKER B. A. D. - Nature, 191, 1121 (1961).
- (⁴) DOWELL C. E. e ROSENBLUM E. D. - J. Bacteriol. 84, 1071 (1962).
- (⁵) PATTEE P. A. e BALDWIN J. N. - J. Bacteriol. 82, 875 (1961).
- (⁶) KORMAN R. Z. e BERMAN D. T. - J. Bacteriol. 76, 454 (1958).
- (⁷) KORMAN R. Z. e BERMAN D. T. - J. Bacteriol. 84, 228 (1962).
- (⁸) EDGAR J. e STOCKER B. A. D. - Nature, 191, 1121 (1961).
- (⁹) SETO J. T., KAESBERG P. e WILSON J. B. - J. Bacteriol. 72, 847 (1956).
- (¹⁰) DAVIS B. D. - Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 35, 1 (1949).
- (¹¹) MORSE M. L., LEDERBERG E. M. e LEDERBERG J. - Genetics, 41, 142 (1956).

Inibizione dell'effetto radiosensibilizzante dell'acido iodoacetico e dello ioduro di sodio da parte dell'endotossina di *Salmonella typhi*

PAL KERTAI (*) e M. ROSARIA BIANCHI (**)

Laboratori di Chimica biologica

Riassunto. — È stato osservato che l'effetto di sensibilizzazione indotto dall'acido iodoacetico e dallo ioduro di sodio in globuli rossi di coniglio, irradiati « in vitro » con raggi X, è notevolmente inibito dalla presenza di endotossina di *Salmonella typhi*. L'inibizione è proporzionale entro certi limiti alla quantità di endotossina presente e non si verifica in presenza di amido, glicogeno, eparina, acido condroitinsolfurico e acido ialuronico.

Summary. — It has been observed that the radio-sensitizing effect of iodoacetic acid and sodium iodide on rabbit erythrocytes, irradiated « in vitro » with X-rays, is considerably inhibited by *Salmonella typhi* endotoxin. The inhibition is proportional, within certain limits, to the amount of endotoxin. No inhibitory effect has been observed in presence of starch, glycogen, heparin, chondroitinsulphuric acid and hyaluronic acid.

È stato riportato da vari autori che alcuni polisaccaridi di origine batterica proteggono efficacemente gli animali sottoposti ad irradiazione totale del corpo (1-6). Tra gli altri SMITH e coll. (7, 8) hanno riportato per primi che l'endotossina preparata da batteri gram-negativi esplica un buon effetto radio-protettivo nei topi e nei criceti.

Il meccanismo con il quale si attua l'effetto di protezione è ancora oscuro e, fino ad ora, non sono stati riportati risultati di esperienze dirette allo scopo di studiare gli effetti delle endotossine su cellule animali irradiate « in vitro ».

(*) Borsista dei Laboratori di Chimica biologica. Indirizzo attuale: O.K.I. Gyáli út 2-6 Budapest IX (Ungheria).

(**) Borsista dei Laboratori di Chimica biologica.

Nella presente nota sono riferiti i dati relativi allo studio degli effetti della Endotossina typhi su eritrociti di coniglio irradiati « in vitro » con raggi X. Le risposte prese in esame, la perdita del potassio intracellulare e l'emolisi, sono in questo caso espressione del danno prodotto dalla irradiazione a carico della membrana eritrocitaria. Tale sistema è stato largamente impiegato nel nostro Laboratorio per lo studio degli effetti di sensibilizzazione alle radiazioni dell'acido iodoacetico e di alcune altre sostanze più o meno correlate con esso (⁹, ¹⁰). Sono stati studiati pertanto non solo gli effetti della endotossina (ET) sui globuli rossi irradiati, ma anche quelli del trattamento combinato con sostanze sensibilizzanti ed ET.

MATERIALI E METODI

Sono stati impiegati globuli rossi di coniglio lavati e sospesi in soluzione fisiologica tamponata a pH 7.2 con fosfati di sodio.

Le tecniche per la preparazione delle sospensioni di globuli rossi, per l'irradiazione di esse con raggi X, per la determinazione della perdita del potassio intracellulare e del grado di emolisi sono state riportate in un precedente lavoro (⁹).

L'endotossina di Salmonella typhi (ET), preparata secondo BOIVIN (¹¹), è stata disciolta nella stessa soluzione fisiologica tamponata, in opportuna concentrazione, e aggiunta alla sospensione di globuli rossi nel rapporto volumetrico 1:16, 30 minuti prima dell'irradiazione. L'amido, il glicogeno, l'eparina, l'acido condroitinsolforico e l'acido ialuronico sono stati preparati e aggiunti alle sospensioni di globuli rossi con lo stesso procedimento, in modo che la concentrazione finale di essi nel sistema fosse uguale alla più alta concentrazione di endotossina usata nelle presenti esperienze (16 μ g per ml).

Quali agenti sensibilizzanti sono stati impiegati l'acido iodoacetico (AIA) e lo ioduro di sodio, la cui azione sensibilizzante è stata già descritta in precedenti lavori. Anche essi sono stati disciolti in opportuna concentrazione nella soluzione fisiologica tamponata e aggiunti, ugualmente nel rapporto volumetrico di 1:16, alla sospensione eritrocitaria. Nel caso del trattamento combinato con ET e sostanze sensibilizzatrici, entrambe le specie sono state disciolte nella stessa soluzione.

Tutte le esperienze di irradiazione sono state effettuate somministrando una dose di raggi X di 158 Kr.

La determinazione della perdita del potassio intracellulare è stata effettuata subito dopo l'irradiazione, quella del grado di emolisi a 22 ore dalla irradiazione stessa conservando i campioni a 4°C durante il suddetto intervallo.

RISULTATI

Le figure 1 e 2 mostrano che l'ET non esercita effetto di protezione sui globuli rossi soltanto irradiati per nessuna delle due risposte prese in esame, mentre tale effetto risulta ben evidente nei riguardi del potere sensibilizzante dell'acido iodoacetico e dello ioduro di sodio.

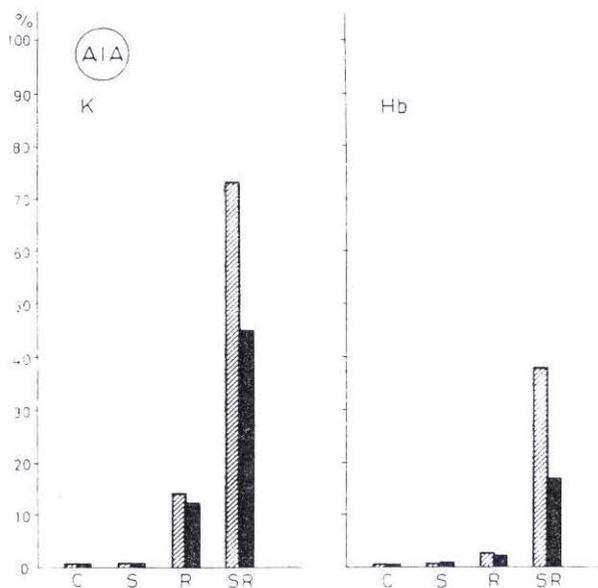


Fig. 1. - Effetto della presenza di ET sulla radio-sensibilizzazione da AIA di globuli rossi di coniglio. Valori percentuali del contenuto intracellulare di potassio (K) e di emoglobina (Hb) ceduto al mezzo di sospensione. I campioni rappresentati dalle colonne nere contengono 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ di ET.

C = campioni di controllo non trattati;

S = campioni trattati con AIA alla concentrazione di 5×10^{-4} M;

R = campioni irradiati con 158 Kr di raggi X;

SR = campioni sottoposti a trattamento combinato con AIA e raggi X.

L'effetto protettivo della ET contro il potere sensibilizzante dell'AIA e dello ioduro di sodio è risultato correlato con la concentrazione di endotossina come risulta dalla fig. 3.

Inoltre tale effetto è risultato in qualche modo specifico per tale sostanza. Infatti l'aggiunta al sistema di altri polisaccaridi quali amido,

glicogeno, eparina, acido condroitinsolforico e acido ialuronico, in quantità uguali alla ET, non provoca alcuna modificazione dell'effetto sensibilizzante dell'AIA (Fig. 4).

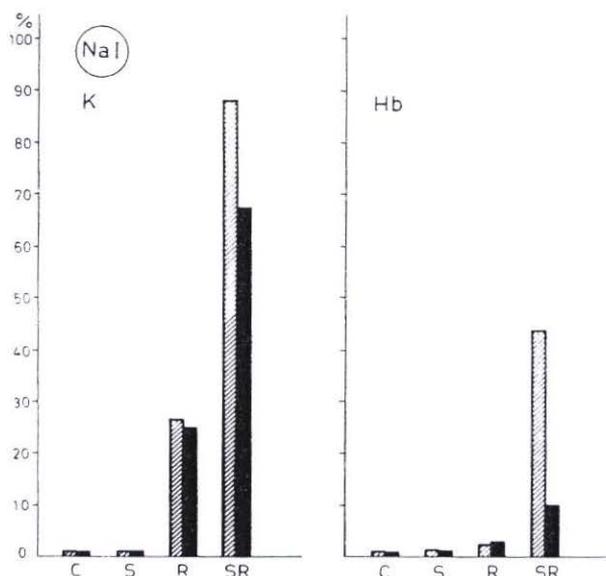


Fig. 2. - Effetto della presenza di ET sulla radio-sensibilizzazione da NaI di globuli rossi di coniglio. Valori percentuali del contenuto intracellulare di potassio (K) e di emoglobina (Hb) ceduto al mezzo di sospensione. I campioni rappresentati dalle colonne nere contengono 16 $\mu\text{g/ml}$ di ET.

C = campioni di controllo non trattati;

S = campioni trattati con NaI alla concentrazione di 10^{-3} M;

R = campioni irradiati con 158 Kr di raggi X;

SR = campioni sottoposti a trattamento combinato con NaI e raggi X.

Sono state infine eseguite delle prove per accertare se la protezione contro l'effetto sensibilizzante dell'AIA poteva essere dovuta alla capacità della ET di combinarsi con l'AIA in soluzione. A questo scopo la endotossina è stata incubata per 1 ora con acido iodoacetico, marcato con C^{14} in posizione 1. Dopo l'incubazione la soluzione è stata sottoposta a separazione elettroforetica ed è stato quindi accertato che non vi era radioattività legata alla endotossina.

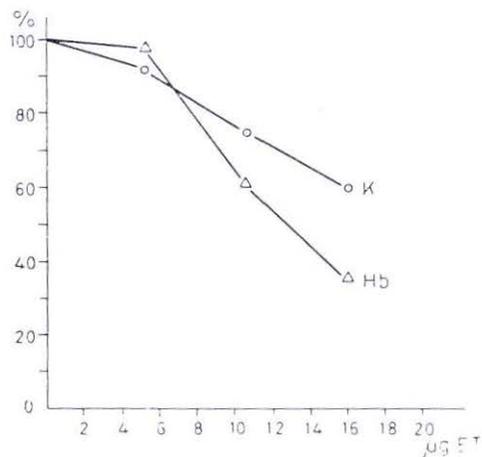


Fig. 3. - Effetto di varie concentrazioni di ET sulla radio-sensibilizzazione da AIA di globuli rossi di coniglio. In ordinate: percentuale dell'effetto di sensibilizzazione relativa a quello osservato in assenza di ET. In ascisse: μg di ET per ml di sospensione di globuli rossi.

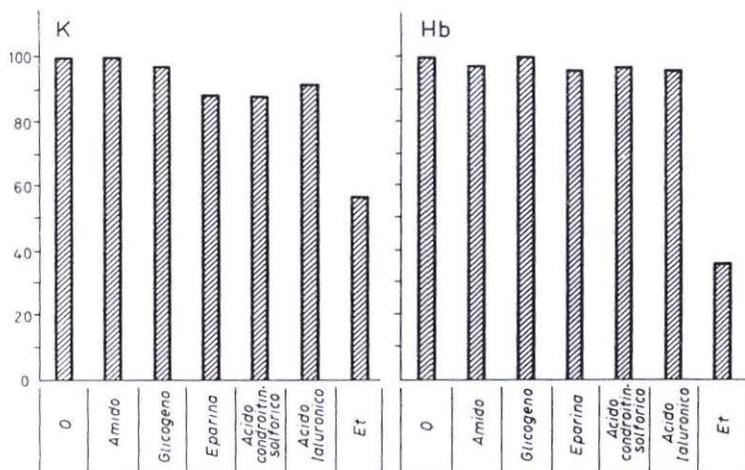


Fig. 4. - Confronto tra gli effetti di ET e di altri polisaccaridi sulla radio-sensibilizzazione da AIA di globuli rossi di coniglio. 100 = effetto di sensibilizzazione osservato in assenza di polisaccaridi.

DISCUSSIONE

I risultati che abbiamo riportato dimostrano innanzitutto che l'effetto protettivo esplicato nei mammiferi dalla ET non si verifica nel caso di un sistema cellulare costituito da globuli rossi irradiati in vitro. Tale risultato può essere in accordo con l'ipotesi che il meccanismo della protezione sia legato ad un processo fisiologico che implica una accelerazione del recupero del danno da irradiazione a livello del sistema emopoietico. Sono stati anche invocati altri fattori quali l'aumento del tasso properdinico e della attività funzionale del SRE (8).

Essi dimostrano inoltre che l'ET previene efficacemente la radiosensibilizzazione indotta dall'AIA e dallo NaI. Si tratta di un effetto che non è comune ad altri polisaccaridi quali amido, glicogeno, eparina, acido condroitinsolfonico e acido ialuronico. Inoltre, nel caso dell'AIA tale effetto non sembra legato allo stabilirsi di un legame fra AIA ed endotossina indipendente dalle radiazioni.

Al momento attuale non possediamo elementi atti a spiegare l'effetto della ET sui globuli rossi sensibilizzati alle radiazioni, tuttavia la ben nota proprietà della ET di essere adsorbita alla superficie di tali cellule (12), può dar sostegno all'ipotesi che la tossina adsorbita sulla membrana eritrocitaria espliciti la sua azione proteggendo quei siti della membrana stessa che sono aggrediti dai prodotti dell'effetto combinato delle radiazioni e delle sostanze sensibilizzatrici.

Gli Autori ringraziano vivamente il Sig. L. Bernardini per la intelligente assistenza tecnica.

14 dicembre 1963.

BIBLIOGRAFIA

- (1) MEFFERD R. B., HENKEL D. T. e LOEFER J. B. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 83, 54 (1953).
- (2) ROSS O. A., MORITZ A. R., WALKER C. J., WURZ L., TODD E. W. e PILLEMER L. - Fed. Proc., 14, 418 (1955).
- (3) ROSS O. A. - Ann. N. Y. Acad. Sci., 66, 274 (1956).
- (4) BLONDAL H. - Brit. J. Radiol., 30, 219 (1957).
- (5) AINSWORTH E. J. e HATCH M. H. - Radiat. Res., 9, 96 (1958).
- (6) AINSWORTH E. J. e HATCH M. H. - Radiat. Res., 13, 632 (1960).
- (7) SMITH W. W., ALDERMAN I. M. e GILLESPIE R. E. - Radiat. Res., 7, 451 (1957).
- (8) SMITH W. W., ALDERMAN I. M. e GILLESPIE R. E. - Am. J. Physiol., 191, 124 (1957).
- (9) QUINTILIANI M., STROM E., BIANCHI M. e BOCCACCI M. - Proceedings of the Symposium on the Biological Effects of Ionizing Radiation at the Molecular Level; International Atomic Energy Agency; Brno 1962.
- (10) BIANCHI M. R., BOCCACCI M., MISITI DORELLO P. e QUINTILIANI M. - Inter. Nat. J. Rad. Biol., 8, 329 (1964).
- (11) KABAT E. A. e MAYER M. M. - Experimental Immunochemistry, Charles C. Thomas Springfield, Illinois, 1960.
- (12) NETER E. - Bacteriol. Rev., 20, 166 (1956).

Note su *Oestrus ovis* L. (Diptera, Oestridae) e descrizione di alcuni casi di miasi nell'uomo

GIUSEPPE SACCÀ, LUIGI GABRIELLI (*) ed ENRICO STELLA (**)

Laboratori di Parassitologia

Riassunto. — Gli autori hanno condotto ricerche sull'Estro della pecora (*Oestrus ovis* L.) in varie località del Lazio meridionale. Questa mosca è diffusa in tutta la zona esplorata ed attacca l'Uomo molto di frequente. Su 84 pastori intervistati, solo 11 non avevano mai sofferto della parassitosi, mentre i rimanenti sono infestati regolarmente quasi ogni anno, e molti di essi anche varie volte nella stessa stagione.

E' stato effettuato un tentativo di infestare sperimentalmente vari animali di laboratorio. Mentre in certe specie diverse dall'ospite abituale le larve non sembrano attecchire, alcune larve sopravvivono a lungo nelle cavità paranasali del coniglio, dove possono raggiungere il secondo stadio avanzato e trovarsi ancora dopo oltre due mesi dall'infestazione. Alla temperatura di 7°C., la femmina matura può restare in vita una settimana in una provetta, e le giovani larve appena estratte dall'utero della mosca e introdotte in soluzione fisiologica, possono sopravvivere 10 giorni.

Le larve di primo stadio non sembrano attecchire nell'Uomo per più di qualche giorno, ma la loro presenza è causa dell'improvviso insorgere di una sindrome allergica, che decorre, generalmente per la durata di 10-20 giorni, senza sintomi strettamente specifici e in molti casi si complica con l'attecchimento di germi banali sulle mucose. La malattia si presenta più grave e di più lunga durata in certi individui, che sono infestati più di frequente e pertanto temono l'attacco della mosca in modo particolare.

Gli autori hanno esaminato 7 casi di miasi delle cavità paranasali, di cui 4 con complicazioni congiuntivali, che si presentano nei pastori durante il loro lavoro. Vengono riferiti i risultati delle indagini cliniche e di laboratorio condotte su questi pazienti, i quali furono curati con successo mediante preparati a base di antibiotici e idrocortisone. Gli autori

(*) Clinica Otorinolaringoiatrica dell'Università di Cagliari.

(**) Borsista dei Laboratori di Parassitologia.

mettono in rilievo che, nonostante la straordinaria frequenza della localizzazione nell'Uomo, la malattia è generalmente misconosciuta dai sanitari.

Summary. — Researches on the sheep's nasal botfly *Oestrus ovis* L. have been carried out in various localities of southern Latium. This fly is spread all over the examined area, and very frequently attacks man. Out of 84 shepherds interviewed by the authors, only 11 have never been attacked, while most of the remaining ones are usually infested every year by the parasite, and in many cases up to several times in a season.

An attempt has been made to infest experimentally various laboratory animals. While in certain species other than the usual hosts the larvae appear unable to grow, some of them may survive in the nasal cavity of the rabbit, where they can grow up to the 2nd instar and may be found even after two months from infestation. At a temperature of 7°C the mature females may remain alive one week in a test tube and the young larvae, just extracted from the fly uterus and introduced in saline, may survive ten days.

The first instar larvae appear unable to grow on man for more than a few days, but their presence suddenly causes the breaking out of an allergic syndrome, usually running for about 10-20 days, without any strictly specific symptom, and in many instances may be complicated by common infection of the mucous membranes. The disease appears to be more serious and to last longer in some individuals, who are infested more frequently and therefore more particularly afraid of attack of the fly.

The authors have examined 7 cases of myiasis of the nasal cavities, 4 of which showed conjunctival implication, occurring among the shepherds during their work. The results of clinical and laboratory investigations carried out on the patients are reported; the patients were successfully treated with antibiotics and cortison compounds. The general ignorance and the high frequency of the disease in man is stressed.

Abbiamo ritenuto utile pubblicare la presente nota per i seguenti motivi:

1) La generale misconoscenza dei casi umani di miasi da *Oestrus ovis* da parte dei sanitari, nonostante le numerose segnalazioni esistenti nella letteratura, anche italiana (1-11);

2) il fatto che, contrariamente all'opinione diffusa, i casi di miasi umana tra i pastori (rinomiasi, otomiasi, oftalmomiasi ecc.) siano talmente frequenti da interessare la grande maggioranza dei soggetti, almeno

nelle località da noi visitate, e non siano scovre da inconvenienti che spesso hanno riflessi sull'attività lavorativa;

3) il fatto che abbiamo potuto procedere allo studio otorinolaringoiatrico di alcuni dei casi osservati, il che può essere di un certo interesse, specie considerando che la maggior parte dei casi descritti nella letteratura riguardano la miasi congiuntivale mentre la localizzazione nasale sembra alquanto più frequente e, purtuttavia, meno conosciuta;

4) il fatto che la miasi, estremamente frequente nella pecora, non è esente da inconvenienti che si ripercuotono sulla resa e sul valore del bestiame, che ne risente soprattutto dal punto di vista dell'alimentazione. Varrebbe quindi la pena di combatterla, cosa che, per quanto ci risulta, è stata tentata solo di recente da qualche autore (¹⁵⁻²¹).

Abbiamo proceduto alla cattura di un certo numero di esemplari in varie località e a tentativi di infestazione su animali di laboratorio. Questo perchè pensavamo che, oltre ai tentativi di lotta che potrebbero essere condotti su greggi, potrebbe essere utile disporre di un animale di laboratorio che possa essere infestato e sul quale la larva possa svilupparsi. Questo sarebbe di una certa utilità per ricerche sperimentali a mezzo di insetticidi sistemici che potrebbero essere impiegati per la disinfestazione in natura.

Abbiamo poi ritenuto opportuno procedere alla intervista di un certo numero di persone (84 in tutto) che per ragioni professionali avessero normalmente contatto con gli ovinì. Con questo lavoro, abbiamo continuato le indagini già a suo tempo condotte alcuni anni fa da PAMPIGLIONE (²²⁻²³) che intervistò numerosi pastori e anche molti medici, raccogliendo una numerosa casistica, con particolare riguardo alle miasi congiuntivali.

Dobbiamo a questo proposito osservare che il contributo dato dal Pampiglione all'argomento è già notevole e il nostro lavoro, laddove si riferisca al paragrafo « Interviste con i pastori » rappresenta solo una integrazione a quanto già riportato da detto Autore. Le nostre indagini si sono svolte in località del Lazio meridionale non incluse nel lavoro di Pampiglione e le informazioni raccolte costituiscono, se non altro, un completamento e una conferma alle notizie riportate precedentemente. Ciò nonostante abbiamo voluto egualmente procedere alle interviste e alla preparazione del paragrafo relativo, perchè abbiamo trovato che questa parte del nostro lavoro era estremamente interessante e suggestiva, specialmente perchè durante i contatti avuti con quella gente semplice ci siamo resi conto che in molti casi era possibile raccogliere da essi dovizia di informazioni biologiche e cliniche, in stridente contrasto con la generale

ignoranza dell'argomento non soltanto del grosso pubblico ma addirittura della maggior parte dei sanitari!

Il paragrafo riguardante la parte clinica, si riferisce a 7 casi da noi osservati, di cui 4 furono sottoposti a esame strumentale. Riteniamo questa parte del nostro lavoro la più interessante come contributo alla conoscenza dell'argomento. Dei sette casi descritti, 4 presentavano anche una sintomatologia a carico della congiuntiva, unitamente a quella a carico della mucosa nasale e rinofaringea.

NOTE DI CATTURA

Gli adulti di *Oestrus ovis* sono tutt'altro che abbondanti e non è affatto agevole procurarsene un certo numero. Tuttavia, una volta avvistata la mosca, la sua cattura risulta abbastanza facile, essendo l'insetto torpido nei movimenti e inconfondibile anche a una certa distanza per un occhio esercitato.

Il sistema migliore per catturare delle femmine adulte di *Oestrus ovis* è, secondo la nostra esperienza, quello di seguire un gregge durante la sosta nei pressi di un abbeveratoio, o durante la tosatura, purchè si scelga una giornata meteorologicamente adatta, cioè calda e senza vento.

Le nostre catture hanno avuto luogo nei mesi di giugno e luglio a Torrecchia Nova (Cisterna di Latina) ed in diverse contrade di Bassiano.

Il primo individuo da noi avvistato alle ore 11 circa del 12 giugno scorso, mentre interrogavamo un gruppo di pastori intenti alla tosatura in località Caseina (Bassiano), era posato a terra sull'erba a pochi cm di distanza da una pecora. Un pastore, prima che noi avessimo il tempo di adoperare il retino, riuscì a catturarlo con le mani. Un altro individuo lo abbiamo catturato poco dopo col retino: volava attorno alle pecore ammassate all'ombra e si era successivamente posato sulla foglia di un arbusto.

Altri quattro esemplari (sempre femmine: non siamo riusciti a trovare un solo maschio) sono stati da noi catturati presso l'abbeveratoio di Torrecchia Nova tra le ore 14-15,30 dello stesso giorno, in uno spiazzo ben soleggiato. Tutti e quattro gli individui erano posati sul dorso delle pecore. In tali condizioni occorre avvicinare lentamente il retino alla mosca per imprigionarla non appena spicca il volo. Non sempre le pecore rimangono calme durante la nostra caccia: esse vengono impaurite facilmente dalla presenza di persone estranee e dagli stessi retini. E' consigliabile lasciarle accostare tutte all'abbeveratoio, o, se hanno già bevuto, cercare di spingerle a poco a poco contro un muro o sotto un grosso albero in modo da arrestarne la marcia. Occorre evitare movimenti bruschi ed operare lentamente onde non impaurirle. Il 18 giugno alle ore 12, presso lo

stesso abbeveratoio, abbiamo catturato altri due estri, (uno posato sul fianco di una pecora, l'altro a terra a breve distanza dagli animali).

Secondo le informazioni di qualche pastore molti individui preferirebbero starsene a terra, posati sulle pietre dove si mimetizzano, o sui muretti degli abbeveratoi, pronti a spiccare il volto e a proiettare le larve.

Tra giugno e luglio 1963 abbiamo catturato in tutto 21 individui. Ma ci siamo dedicati solo saltuariamente alla cattura degli estri, allo scopo di ottenere un certo numero di larve per tentare in laboratorio qualche infestazione sperimentale.

TENTATIVI DI INFESTAZIONE SPERIMENTALE

Una volta imprigionato l'estro, questo viene passato dal retino dentro un tubo di vetro in cui precedentemente era stata posta una striscia di carta aderente alle pareti per consentire alla mosca di trovare un supporto a cui aggrapparsi.

Il primo problema che ci si presentava era come conservare vivo l'insetto per qualche giorno, fino a quando, tornati a Roma, non avessimo avuti pronti gli animali da infestare. *Oestrus ovis*, da adulto, vive pochi giorni: appena il tempo di riprodursi; questo dittero infatti è privo di apparato boccale. Il problema è stato risolto tenendo i tubi di vetro contenenti le mosche in frigorifero ad una temperatura di 7°C. In tal modo ci è stato possibile mantenere in vita le mosche anche per la durata di un'intera settimana.

Poichè l'estro partorisce le sue larve proiettandole mentre vola, era praticamente impossibile ottenere che una mosca, in laboratorio, infestasse spontaneamente gli animali da noi prescelti. Decidemmo allora di addormentare l'insetto con un po' di etere o di anidride carbonica e di incidere l'addome lungo le membrane intersegmentali, isolando e sollevando almeno tre sterniti. Attraverso la breccia, così praticata, abbiamo asportato l'utero pieno di larve e, apertolo in una capsulina di vetro contenente soluzione fisiologica, abbiamo visto le larve muoversi rapidamente nell'elemento liquido. Mediante una pipetta Pasteur affilata e con l'aiuto del microscopio, ci è stato possibile prelevare il numero esatto, da noi stabilito, di larve, e con la stessa pipetta introdurle nelle narici e negli occhi di alcuni animali. Avevamo provato in precedenza a prelevare le larvette con un pennellino e a trasferirle sulla mucosa congiuntivale e nasale degli animali, ma il sistema della pipetta è più rapido e sicuro e garantisce la penetrazione di tutte le larve nelle cavità prescelte.

Abbiamo infestato così due cavie, due ratti, quattro agnelli, due pecore, due capre e dodici conigli.

Sull'esito delle infestazioni sperimentali che ci ripromettiamo di ripetere e studiare in un numero maggiore di animali, riferiremo in seguito. Per adesso ci limitiamo a segnalare che, avendo eseguito la autopsia di due conigli morti per altre cause, rispettivamente 16 e 19 giorni dopo la infestazione, abbiamo ritrovato lungo il setto e nelle fosse nasali alcune larvette di I stadio un po' cresciute, ancora vive.

In un altro coniglio, morto 21 giorni dopo l'infestazione, abbiamo rinvenuto nelle fosse nasali, piuttosto profondamente, una larva di I ed una di II stadio, notevolmente cresciuta. In un'altro ancora, sacrificato dopo due mesi dall'infestazione vi erano larve di II stadio, insieme ad alcune larve di I stadio appena un poco cresciute.

Dobbiamo infine notare che è possibile estrarre larve vive anche da femmine di *Oestrus ovis* morte da almeno 1 o 2 giorni, soprattutto se queste sono state conservate in frigorifero. Abbiamo potuto constatare che anche dopo essere state estratte dall'addome materno, le larvette sopravvivono, se conservate in qualche goccia di soluzione fisiologica alla temperatura di circa 7°C, per almeno una diecina di giorni. Ciò consente di avere a disposizione per un periodo relativamente lungo un certo numero di larve da impiegare per le infestazioni sperimentali.

INTERVISTE CON I PASTORI

Le nostre indagini preliminari sulle infestazioni da *Oestrus ovis* negli animali e nell'uomo, nell'Agro Romano, si sono svolte finora in provincia di Latina (Borgo Isonzo, Torrecchia Nova, Bassiano, Bosco S. Antonio, Rocca Massima); in provincia di Roma (Carpineto Romano), in provincia di Frosinone (Guarcino, Colleparado e Colle Lavena).

Abbiamo interrogato complessivamente 80 pastori, 3 macellai e un commerciante di ovini.

Il fatto che più ci colpì specie nei nostri primi casuali contatti avvenuti con i pastori è la generale conoscenza da parte di questa gente di un fatto che, dalla maggior parte della letteratura, potrebbe credersi raro o sporadico, e le informazioni di carattere parassitologico, spesso minuziose, quasi sempre esatte e coerenti, che è possibile raccogliere nell'ambiente. Tutti i pastori, senza alcuna esclusione, si sono mostrati al corrente del fatto che il « raffreddore » che colpisce le pecore a partire dai primi rialzi termici stagionali è dovuto a una mosca, chiamata « mosca verminara » o « mosca delle pecore », la quale « mette i vermi » nel naso delle bestie e spessissimo attacca l'uomo.

Decidemmo pertanto di interrogare sistematicamente i pastori delle suddette località.

E' significativo il fatto che quasi tutti gli 80 pastori da noi intervistati conoscono tanto bene l'estro della pecora che ne sanno descrivere, sia pure grossolanamente, le più salienti caratteristiche morfologiche, distinguendolo con sicurezza dagli altri Ditteri e soprattutto dalle varie specie di Tafani che, numerosi, seguono i greggi. E conoscono ancor meglio le larvette neonate che essi descrivono come piccolissime, bianche con la testina nera, assai mobili, specialmente in ambiente umido o meglio su superfici bagnate. Sono tutti d'accordo nell'affermare che la mosca delle pecore non depone uova, ma proietta, mentre vola, larve vive. Essi stessi, premendo sull'addome del Dittero, provocano la fuoriuscita delle larve.

Qualche raro pastore che non ha mai visto l'insetto adulto, lo conosce per averne sentito parlare dai compagni e per esserne stato infestato. Nessuno di loro però, si rende conto di quale sia l'intero ciclo biologico dell'estro: i pastori ignorano che le piccole larve tanto temute si trasformeranno in mosca. Anche quei pochi che sono riusciti a vedere delle larve mature espulse assieme a muco dalle narici delle pecore ci confessano che non avevano mai pensato che si trattasse delle stesse larvette penetrate qualche tempo prima. Infatti è opinione diffusa tra i nostri pastori che, anche nelle pecore, come nell'uomo, i piccoli « vermi » penetrati negli occhi, nel naso, nella bocca, dopo un periodo più o meno breve muoiano, lasciando dei disturbi che guariscono quasi sempre spontaneamente.

Qualcuno crede addirittura che le larvette siano dei « microbi » proiettati dalla mosca e che questi s'iano causa di una fastidiosissima « infezione » sia nell'uomo che negli animali. Insomma è raro che il pastore conosca il vero rapporto esistente tra mosca e « vermi ».

Quasi tutti i nostri intervistati, ad eccezione di qualcuno, per natura timido o diffidente, sono stati lieti di poter collaborare con noi, fornendoci delle notizie utili sull'estro ed hanno formulato la speranza che presto vengano studiati ed applicati dei sistemi di lotta contro l'insetto.

Oestrus ovis, infatti, secondo quanto essi stessi ci hanno riferito, provoca danni non indifferenti, sia perchè gli animali infestati rimangono più o meno a lungo indisposti, mangiano poco e deperiscono, (qualche agnello infestato massivamente finirebbe addirittura col soccombere), sia perchè molti pastori, affetti da miasi, sono costretti ad abbandonare il lavoro per alcuni giorni.

Due anziani pastori di Latina, Restanti M. e Battisti M. ci hanno assicurato che quest'anno, tra giugno e luglio, i loro greggi erano infestati per almeno il 50%.

Secondo le notizie forniteci, i mesi in cui *Oestrus ovis* è certamente presente e abbondante sono giugno e luglio (in montagna luglio e agosto). Su questi due mesi tutti sono stati d'accordo. Naturalmente il periodo di volo è più lungo in pianura ed in collina, dove, secondo molti pastori,

nelle annate favorevoli l'estro comincia a volare tra il 15 e il 30 maggio e lo si incontra fino a settembre ed, eccezionalmente, in ottobre. Solo due dei nostri informatori ci hanno detto che la mosca si troverebbe talvolta anche in novembre.

A Guarcino quattro pastori (Olivieri P. ed A., Lenzi P. e Giordani E.) ci hanno precisato che l'adulto dopo un periodo di massima attività tra la metà di giugno e luglio, si farebbe raro in agosto per ricomparire ancora a settembre (mese in cui sarebbe però assai meno frequente che all'inizio dell'estate). Ciò farebbe pensare ad una seconda generazione autunnale.

Oestrus ovis si trova certamente anche in alta montagna. Il pastore Campagna R. di Carpineto ci informa di essere stato colpito sul labbro superiore mentre si trovava col gregge ad un'altezza di 1.200 m. Un vecchio pastore di Guarcino, Martufi F. afferma che la mosca, benchè più rara si trova anche a Campocatino tra m. 1.800-2.000 in luglio e agosto. Tale notizia ci è confermata da Restanti M., pastore di Borgo Isonzo (Latina), il quale ricorda che quando si recava col gregge a Campocatino vedeva anche lassù l'estro della pecora, ma in minor numero, mentre il dittero era assai più abbondante a Monne, fra Guarcino e Campocatino, all'altezza di quasi 800 m. Anche secondo i cinque fratelli Amati, pastori di Bosco S. Antonio, l'infestazione da estro è frequente tra gli 800 e i 1.000 m.

Sulle condizioni atmosferiche che favoriscono il volo tutti sono stati concordi nell'asserire che l'insetto vola di più nelle giornate molto calde, sia col cielo limpido che annuvolato. Anzi quando il cielo è coperto e c'è un caldo afoso, la mosca sarebbe, secondo l'opinione dei più, attivissima. Il vento invece la disturba.

Un pastore di Carpineto, Centra R., che a lungo ha osservato le abitudini di *Oestrus ovis*, ci dice che l'insetto proietterebbe le sue larve con maggior frequenza « quando cambia tempo ». Restante O. di Rocca Massima ci precisa che ha notato un accentuarsi dell'incidenza delle infestazioni dopo le piogge estive, allorchè il sole è molto caldo.

Anche le ore di maggiore attività sarebbero le più calde, ma ci è stato detto che praticamente dall'alba al tramonto la mosca può proiettare le sue larve.

Circa la specificità parassitaria, la maggior parte dei pastori afferma che sono colpite soprattutto le pecore, mentre le capre vengono infestate più raramente. Qualcuno ci ha spiegato che le capre sanno schivare la mosca e che hanno l'abitudine di sbuffare spesso con vivaci movimenti della testa, il che renderebbe più difficile l'avvicinarsi dell'estro. Le capre inoltre non rimangono mai molto ammassate come le pecore, ma preferiscono starsene più isolate.

Accidentalmente, secondo le osservazioni di 6 dei nostri informatori (Martufi F., Terenzio A., Jerussi L. e Olivieri M. di Guaricino; Della Vecchia G. di Rocca Massima e Battisti A. di Latina) vengono colpiti anche i cani i quali presentano una sintomatologia simile a quella delle pecore. Il Terenzio avrebbe osservato che il cane viene infestato soprattutto quando apre la bocca per afferrare la mosca, o addirittura quando riesce ad addentare l'insetto spremendone l'addome pieno di larvette.

Cinque sono le circostanze in cui maggiormente si verificano le infestazioni nell'uomo (ed anche su questo punto le affermazioni dei pastori sono state unanimesi):

1) il trovarsi in prossimità degli abbeveratoi, quando le pecore vanno a bere: sulle pietre delle fontane spesso la mosca è in agguato;

2) l'essere intenti alla tosatura, quando gli ovini sono immobilizzati a terra e le mani degli uomini sono occupate in quell'operazione;

3) la mungitura, quando l'odore del latte sembrerebbe attirare la mosca, mentre anche in questo caso i pastori non hanno le mani libere;

4) la « smacchiatura »: con tale termine i nostri pastori indicano il momento in cui essi conducono fuori dai luoghi ombrosi (« macchie ») le pecore che durante le ore calde erano rimaste « ammacchiate »; allora sul dorso degli animali si trovano spesso delle femmine di *Oestrus ovis* che si tengono pronte a proiettare le loro larve e che, non appena la pecora si mette in marcia, cominciano a volare;

5) dormire all'aperto, di giorno, vicino ad un gregge di pecore.

La frequenza delle infestazioni nell'uomo è veramente notevole. Su questo punto il nostro interrogatorio è stato particolarmente accurato poichè si tratta del dato di maggiore interesse. Le risposte forniteci dagli 84 soggetti da noi intervistati bastano a dare un quadro abbastanza chiaro dell'incidenza della miasi umana. Non potendo dilungarci ad enumerare le singole risposte, ne riassumiamo i dati più importanti.

Degli 80 pastori solo 11 hanno affermato di non essere stati mai colpiti: di questi uno, quindicenne, ha condotto solo mandrie di capre; altri due, raramente si sono provati a condurre pecore; un altro non ricorda se è stato colpito almeno una volta da bambino.

Tutti gli altri sono stati infestati nel corso della loro vita da una a moltissime volte.

E' difficile che i pastori, soprattutto gli anziani, ricordino esattamente quante volte sono stati colpiti.

Circa un quinto degli intervistati ammette di aver subito l'infestazione tutti gli anni o quasi; di questi, dieci precisano di essere stati colpiti regolarmente ogni anno da due a quattro volte in un paio di mesi.

Corvo C. di Bassiano (località Caseina) ricorda addirittura sette infestazioni in una sola estate. Centra R. di Carpineto ci assicura di essere stato colpito in viso quattro volte nello stesso giorno! Tomei C. di Rocca Massima riferisce di aver ricevuto tre mucchietti di larve, due sul viso e uno in bocca, in una mattinata.

Comunque, per la maggior parte i pastori interrogati sono stati colpiti molte volte ma non sanno precisare quante. Alcuni, soprattutto del gruppo di Guarcino, ricordano di aver subito parecchie infestazioni da giovanissimi, quando ancora non conoscevano bene la mosca e non sapevano proteggerli. Ma divenuti poi esperti conoscitori delle abitudini del dittero, riescono spesso a schivarlo e gli danno la caccia, afferrandolo con le mani mentre vola, o quando si posa sul dorso delle pecore o sulle pietre degli abbeveratoi. Centra R. di Carpineto ne ha catturati molti, fino ad un massimo di 7 individui in una sola mattina.

Un commerciante di bestiame, Macciocca G. di anni 23, di Guarcino, ci racconta che, trovandosi spesso, per ragioni di lavoro, fra gli ovini, viene colpito tutti gli anni dall'estro della pecora, ma non è mai riuscito a vedere la mosca.

Dei tre macellai intervistati, uno ha sofferto di miasi una sola volta, da ragazzo: poi non ha avuto più occasione di frequentare greggi; mentre un altro, Del Ferraro G. di Rocca Massima è stato colpito almeno una dozzina di volte.

Secondo le osservazioni di molti pastori, l'odore dell'alito avrebbe un'importanza non indifferente nell'attrarre l'estro. Essi ritengono che i giovanissimi che non hanno mai fumato, sono colpiti con maggior frequenza, ed infatti tutti i pastorelli da noi incontrati avevano ripetutamente sofferto di miasi. Anche coloro che bevono latte o mangiano ricotta o altri latticini sarebbero colpiti più degli altri. Panetta B. di Bassiano, come altri pastori, attribuisce una particolare proprietà attrattiva all'odore del latte e riferisce in proposito che la moglie fu colpita, una volta mentre allattava il bambino. E' anche diffusa l'opinione che un soggetto sofferente per miasi da estro possa essere con maggiore facilità reinfestato a breve scadenza. E' indubbio, comunque, che alcuni soggetti siano colpiti assai più spesso degli altri e appaiono sovente terrorizzati dal pensiero di dover riprovare le sofferenze già patite; ne abbiamo incontrati alcuni che sembravano avere la fobia per l'estro e non volevano quasi parlarne e, seguendo le mandrie, si proteggevano il naso e la bocca con un fazzoletto annodato dietro al collo.

Circa le modalità dell'infestazione nell'uomo essi riferiscono che la mosca si aggira in prossimità della vittima prescelta, producendo un ronzio che spesso gli stessi pastori riconoscono e, all'improvviso, da una distanza che varierebbe da pochi cm. fino a 20-30, proietta un mucchietto di larve

che può colpire con esattezza la bocca, o le narici o gli occhi: in tal caso le larvette, con movimenti rapidissimi, si spingono subito in profondità ed allora è difficile liberarsene. Ma non sempre la mosca riesce a colpire le mucose, ed accade sovente che le larve vengano proiettate sulla pelle del viso, ad una certa distanza dagli orifizi mucosi. I minuscoli parassiti, allora, se la cute è umida, soprattutto se è bagnata di sudore, raggiungono rapidamente le mucose, ma se è asciutta i loro movimenti sono più lenti e difficili e i pastori hanno il tempo di afferrare tra le dita il mucchietto di larve prima che queste si disperdano e penetrino nella bocca o nel naso o negli occhi.

E' abitudine dei pastori osservare le larvette, quando riescono a prenderle con le dita, e tutti ci dicono di aver provato a farle camminare sulla mano umettata con un po' di saliva, allora le vedono muoversi rapidamente. Abbiamo chiesto quante larve di solito si trovano a costituire il « mucchietto ». Qualcuno ci ha risposto di averne contate circa dieci, altri quindici, altri ancora una ventina.

A giudicare da alcuni episodi narrati dai pastori, una sola mosca potrebbe in breve tempo infestare più individui.

Martella V. di Carpineto ci riferisce che una mattina mentre insieme ad altri tre pastori era intento alla mietitura, (non vi erano pecore nelle vicinanze), all'improvviso, nel giro di pochi minuti, tutti e tre i suoi compagni venivano colpiti o al naso o alla bocca dall'estro della pecora. Dei quattro uomini solo il Martella fu risparmiato. Data la lontananza dal gregge essi erano rimasti sorpresi e incuriositi, quando poco dopo si accorsero che il dittero stava posato sulla camicia bagnata di sudore di uno di loro. La mosca fu subito catturata e uccisa. Il Martella ritiene che l'insetto fosse stato trasportato inavvertitamente da un compagno che poco prima era stato in mezzo alle pecore. Infatti nelle prime ore del mattino la mosca intorpidita si lascia trasportare passivamente dalle pecore e talvolta dall'uomo.

Riteniamo interessante ricordare il caso di Atalfi E. di 12 anni da Guarcino, che è stato colpito contemporaneamente ai due occhi: da ogni occhio, secondo la testimonianza di un altro pastore, furono estratte circa 12 larve.

Anche Campagna R. di Carpineto asserisce di aver sofferto di miasi oculare bilaterale all'età di 15 anni.

Non appena colpiti dal getto di larvette, i pastori fanno tutto il possibile per liberarsi dai temuti parassiti. Ciò, come abbiamo detto, è facile quando le larve sono andate a finire sulla cute asciutta, lontano dagli occhi, dal naso e dalla bocca; ma se è stata colpita direttamente una di queste cavità, l'eliminazione totale delle larve è pressochè impossibile. Tuttavia i pastori tentano, almeno, di eliminarne una parte nella speranza che i sin-

tomi decorrano più attenuati. Quando è colpito l'occhio, si fanno aiutare da un compagno il quale, con un lembo del fazzoletto o con uno stecchino rivestito dal fazzoletto, tenta di estrarre le larve. Se tale manovra viene eseguita immediatamente dopo l'infestazione, si riesce spesso ad eliminare una buona parte delle larvette. Alcuni pastori tentano, da soli, tale operazione, come ci ha riferito Lenzini T. di Guarcino, il quale all'età di 15 anni, portando in tasca uno specchio, con l'aiuto di questo e servendosi del lembo di un fazzoletto, riuscì ad estrarre dall'occhio 16 larve.

Anche nel caso di infestazione orale e nasale, si cerca, con le dita o con la punta del fazzoletto, di tirar fuori le larve appena penetrate.

Secondo la descrizione unanime dei pastori, la sensazione provata nel momento in cui è colpita la pelle del viso, è simile a quella provata dallo schizzo di una goccia di acqua fresca. A proposito, Centra R. di Carpineto nota che quando il cielo è annvolato e si prevede un temporale imminente, si può esser tratti in inganno e scambiare per una goccia di pioggia il gruppetto di larve ricevuto sul viso. Allora non ci si fa caso e i parassiti raggiungono, indisturbati, le mucose.

Alcuni pastori vengono colpiti spesso sui baffi. Celani C. di Guarcino è stato colpito 4 volte sempre sui baffi: per tre volte è riuscito ad affer rare il mucchietto di larve, ma un'altra volta queste si sono introdotte nella narice.

Quando è colpito l'occhio si avverte subito la fastidiosa presenza di un corpo estraneo e in breve compaiono i sintomi della congiuntivite e spesso della concomitante rinofaringite.

Gli stessi pastori descrivono l'occhio gonfio e rosso « come un pomodoro », iniettato di sangue, con le palpebre chiuse, ed una abbondante secrezione purisimile che incolla le ciglia.

Noi stessi abbiamo potuto osservare in un pastore di Bassiano, Cifra F., il cospicuo edema palpebrale e le numerose emorragie, sottocongiuntivali (v. sotto).

Anche la sintomatologia a carico del rinofaringe è fastidiosissima: si ha subito una secrezione nasale dapprima sierosa, in seguito mucopurulenta, con continui starnuti, tosse insistente e stizzosa, seguita a volte da un abbondante espettorato, difficoltà nella respirazione, senso di oppressione al torace, talvolta vomito. Un'anziana donna di Latina, Battisti A., figlia, moglie, e madre di pastori ci racconta che, da ragazza, quando veniva colpita, la presenza delle larve nel faringe le provocava abbondante vomito schiumoso. Il riposo notturno è impedito dall'accentuarsi della congestione della mucosa nasale in clinostatismo con maggiore ostacolo alla respirazione. Viene accusata una profonda astenia ed anoressia. Può esser presente febbre più o meno elevata. Vi è spesso cefalea frontale. I disturbi, così come ci vengono descritti dai pastor!, sono assai più imponenti delle

note e comuni affezioni virali che colpiscono le prime vie respiratorie, e sono causa nelle prime 24-48 ore, di notevoli sofferenze. Queste vengono descritte con le espressioni più pittoresche essendo la malattia temuta, specie da certi soggetti che sono attaccati con particolare frequenza.

A Torrecchia Nova, Bassiano e Carpineto i pastori credono che le larvette nell'uomo non riescano a sopravvivere oltre le 24 ore. Questa nozione viene tramandata da una generazione all'altra e tutti i pastori ce la ripetono. Essi sostengono che mentre in prima giornata si avverte il movimento dei parassiti, soprattutto nel rinofaringe e nel faringe, dopo 24 ore questa sensazione cessa.

A Guarcino, invece, tutti i nostri intervistati ripetono la frase consacrata dai loro avi e trasmessa anche qui da padre in figlio: « I vermi » — essi ci dicono — « 8 giorni crescono e 8 giorni calano », volendo significare che durante la prima settimana le larvette crescerebbero, provocando — secondo loro — l'occlusione quasi completa del naso, mentre nei successivi 8 giorni esse deperirebbero fino a morire.

Tale opinione, ormai radicata da tempo immemorabile tra i pastori di questa zona, ci testimonia che la fase acuta della miasi dura circa 15 giorni, ma nel corso della seconda settimana si ha una progressiva remissione dei sintomi. La maggior parte dei pastori ci riferisce, del resto, che i disturbi durano un paio di settimane in media, ma che talvolta trascorrono da 20 a 30 giorni prima che siano completamente scomparsi. Naturalmente bisogna tener conto anche del numero delle larve che sono riuscite a penetrare perchè nei casi in cui le larve sono poche o sono state in parte estratte subito, l'affezione decorre con una sintomatologia attenuata. Nè bisogna trascurare nella valutazione dei sintomi la reattività individuale. Sono rari, comunque, i casi risolti completamente in tre-quattro giorni, mentre solo un pastore, Campagna R. di Carpineto, colpito ai due occhi all'età di 15 anni, asserisce di essere rimasto ammalato per una quarantina di giorni.

Nessuno dei pastori intervistati ricorda di aver mai espulso, soffiandosi il naso o con starnuti, larve più grosse di quelle penetrate. Di solito i pastori non ricorrono al sanitario per la miasi da *Oestrus ovis* e quei pochi che l'hanno fatto ci assicurano di aver trovato il medico incredulo di fronte alla « storia della mosca che butta i vermi alle pecore e alle persone ». L'affezione è stata, per lo più, diagnosticata come un violento raffreddore o un'influenza. Pertanto i pastori si curano da sé con mezzi empirici.

Essi sostengono, ed anche in questo sono quasi tutti dello stesso parere, che un valido sistema per stordire le larvette e per affrettarne la morte è rappresentato dal fumare il sigaro o la pipa. Sembra che il fumo dia un immediato sollievo ed acceleri la guarigione. E così anche l'uso del tabacco da naso.

I pastori di Bassiano stimano utile masticare una erba odorosa che essi chiamano « mentuccia ». Altri mangiano aglio, cipolle o bevono vino e liquori; altri ancora fanno dei gargarismi con l'aceto.

Della Vecchia G. e Del Ferraro G. di Rocca Massima riferiscono che essendo stati affetti da miasi congiuntivale, hanno adottato un sistema noto ai pastori del luogo: hanno applicato cioè, sull'occhio colpito dalle foglie di sambuco, tenendovele per un paio di giorni mediante una benda. Essi, inoltre, hanno visto dei pastori affetti da miasi oro-faringea, inghiottire il tabacco nero, bruciato, ottenuto raschiando le vecchie pipe. Il Della Vecchia ha usato una miscela di peperoncini rossi, sale ed aceto forte per gargarismi.

Solo in tre casi di miasi congiuntivale (Macciocca G., Olivieri P., ed Olivieri M. di Guarcino) è stato impiegato, pure con scarsa utilità, un collirio per consiglio del farmacista.

Per difendersi dalla mosca la maggior parte dei pastori fuma il sigaro o la pipa, o si limita a tenere in bocca la pipa spenta. Del resto è opinione diffusa, anche se non condivisa da tutti i pastori, che i fumatori ed anche i bevitori sarebbero più raramente affetti da miasi da *Oestrus ovis*.

Altri preferiscono tenere tra le labbra delle foglie larghe; per esempio di felci, che possano proteggere sia la bocca che le narici. Altri ancora, soprattutto durante la tosatura e la mungitura del tardo pomeriggio (ora particolarmente temuta) proteggono il viso con un fazzoletto annodato dietro al collo. Alcuni pastori usano agitare davanti al proprio viso dei ramoscelli.

Infine, qualcuno ha dimostrato di essere più previdente e meglio organizzato: Martufi P. di Guarcino e Restanti C. di Rocca Massima hanno adottato negli ultimi anni, nelle occasioni in cui più temuta era la presenza del dittero, una maschera di velo, cucita alla visiera del berretto.

ILLUSTRAZIONE DEI CASI OSSERVATI

Su 7 pazienti, per i primi tre ci si è dovuto limitare a un esame superficiale sul posto, mentre per tre dei successivi è stato possibile condurli presso un istituto di ricerca, dove sono stati sottoposti ad un completo esame specialistico, strumentale, radiologico e di laboratorio. Per un settimo caso, l'esame strumentale, otorinolaringoiatrico, è stato eseguito a domicilio.

1) (11 giugno '63) - D. Domenico, a. 17 (Cisterna, Latina), pastore.

Anamnesi patologica remota: Il P., che da solo un anno ha iniziato questo genere di lavoro, riferisce di non essere mai stato colpito in precedenza dalla infestazione.

Anamnesi patologica recente: Circa dieci giorni prima della nostra osservazione, il P. racconta di essere stato infestato due volte in due giorni successivi, rispettivamente all'occhio DS. e all'occhio SN. e di aver sofferto, in conseguenza, di una infiammazione congiuntivale con edema palpebrale così imponente da impedirgli di lavorare per qualche giorno. Si associava alla sintomatologia oculare una rinite con rilevante stenosi respiratoria e secrezione.

Esame obiettivo: Al momento della nostra osservazione si nota una iperemia congiuntivale bilaterale, più accentuata all'occhio DS. Benchè non sia stato possibile praticare un esame rinoscopico strumentale, si è potuto rilevare una notevole congestione del vestibolo nasale e la presenza di una secrezione muco-purulenta.

2) (11 giugno '63) - R. Felice, a. 50 (Cisterna, Latina), pastore.

Anamnesi patologica remota: Il P. che esercita la pastorizia da molti anni, riferisce di essere stato infestato dalle larve di *Oestrus ovis* quasi ogni anno e, talora, più volte nella stessa stagione.

Anamnesi patologica recente: Il giorno precedente alla nostra osservazione, mentre era intento alla mungitura delle pecore, il P. è stato colpito da un getto di larve che in parte è riuscito ad eliminare dalla narice con manovre strumentali e con l'aiuto del fazzoletto. Lamenta, da allora, una sintomatologia clinica nasale, riferibile ad una rinite di tipo allergico con abbondante secrezione sierosa.

Esame obiettivo: Il vestibolo nasale, ricoperto da essudazione sierosa, si presenta ad un esame esterno non strumentale, fortemente iperemico con un leggero stato di edema che si estende alla cute delle pliche nasolabiali, specialmente a DS.

3) (18 giugno '63) - C. Filippo, a. 32 (Bassiano, Latina), pastore.

Anamnesi patologica remota: Il P. ci racconta di essere soggetto con straordinaria frequenza (ogni anno più volte durante la stagione estiva) ad infestazioni da *Oestrus ovis*, che si manifestano con sintomatologia nasale ed oculare, isolata o in associazione, particolarmente intensa, che perdura 15-20 giorni.

Anamnesi patologica recente: Il P. veniva infestato all'occhio DS. e al naso 24 ore prima della nostra osservazione, da una mosca (che ha poi avvistato e catturato) mentre era intento alla tosatura delle pecore. La sintomatologia subiettiva esordiva con un senso di bruciore intenso all'occhio e fotofobia; contemporaneamente si instaurava una crisi di starnuti, vellicchio rinofaringeo, secrezione sierosa e intensa stenosi respiratoria che

si accentuava nel decubito orizzontale tanto da impedirgli il riposo notturno.

Esame obiettivo: Un notevole stato di edema della palpebra inferiore e superiore riduce a fessura virtuale la rima. Le congiuntive tarsale e bulbare sono fortemente iperemiche e leggermente edematose, mentre una infiltrazione emorragica sottocongiuntivale si evidenzia nei quadranti superiori della congiuntiva bulbare. L'esame esterno del naso, nella impossibilità di eseguire una rinoscopia anteriore, rivela una marcata iperemia del vestibolo, bilateralmente, che si estende alla cute del labbro superiore. Secrezione sierosa. L'aspetto obiettivo permane invariato ad una successiva osservazione a distanza di 24 ore. Vengono eseguite alcune fotografie. (Figg. 1 e 2).

4) (giugno '63) - C. Pietro, a. 30 (Bassiano, Latina), pastore.

Anamnesi patologica remota: Il P. riferisce di aver subito in precedenza, sempre in periodo estivo, altre infestazioni, con la stessa sintomatologia subiettiva nasale, a volte associata a manifestazioni infiammatorie congiuntivali di lieve entità.

Anamnesi patologica recente: Circa 4 giorni fa, mentre era intento alla tosatura delle pecore, il P. veniva infestato da un getto di larve; riferisce di averne ritrovato, nel gesto di allontanarle dalla regione zigomatica, alcuni esemplari sul palmo della mano. Il P. racconta che la sintomatologia ebbe inizio con crisi di sternali, idrorrea, stenosi respiratoria nasale più accentuata a SN. Attualmente lamenta cefalea frontale, notevole difficoltà respiratoria nasale, secrezione mucopurulenta, ipoacusia bilaterale più accentuata a SN.

Esame obiettivo: Alla rinoscopia anteriore, la mucosa della fossa nasale DS. appare di colorito rosso-vinoso; il turbinato inferiore, turgido e congesto, occlude parzialmente la « pars respiratoria ». Anche la testa del turbinato medio si presenta iperemica e congesta, mentre sulla mucosa del meato medio, di colorito rosso vivo, si osserva una striatura di secrezione ispessita. Un'essudazione mucopurulenta ricopre il pavimento della cavità, e la testa e il corpo del turbinato inferiore.

La fossa nasale SN. appare leggermente più stenotica della precedente, per una deviazione modica del setto nasale nella sua porzione cartilaginea. Il colorito della mucosa è analogo a quello della cavità controlaterale; la testa e il corpo del turbinato inferiore sono notevolmente aumentati di volume; la secrezione è più abbondante che nella fossa nasale di DS.

L'esame dell'orofaringe non mette in evidenza reperti di particolare rilievo agli effetti della nostra indagine, se si eccettua la presenza di strie

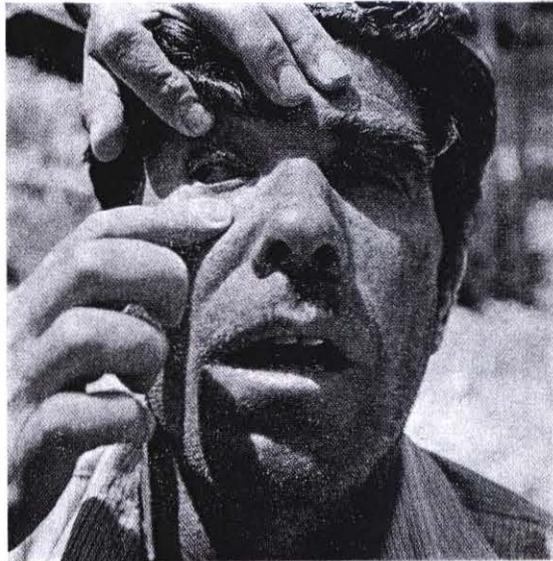
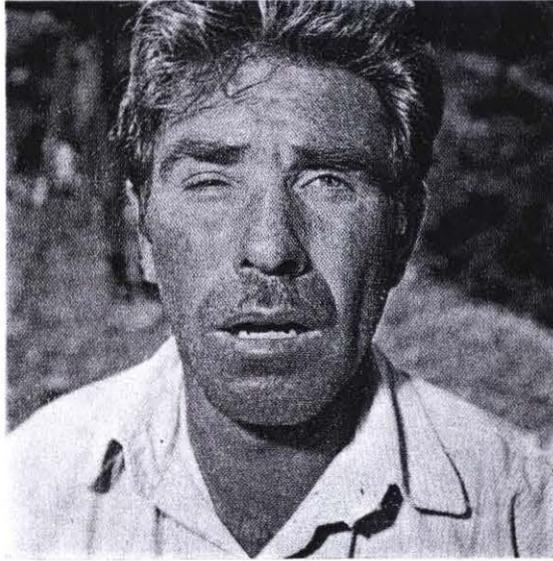


Fig. 1 e 2. — Miasi nasale e congiuntivale da *Oestrus ovis* (caso n. 3). Si noti l'edema palpebrale e l'infiltrazione emorragica sottocongiuntivale. Il P. è costretto a respirare con la bocca aperta, a causa dell'edema della mucosa nasale.

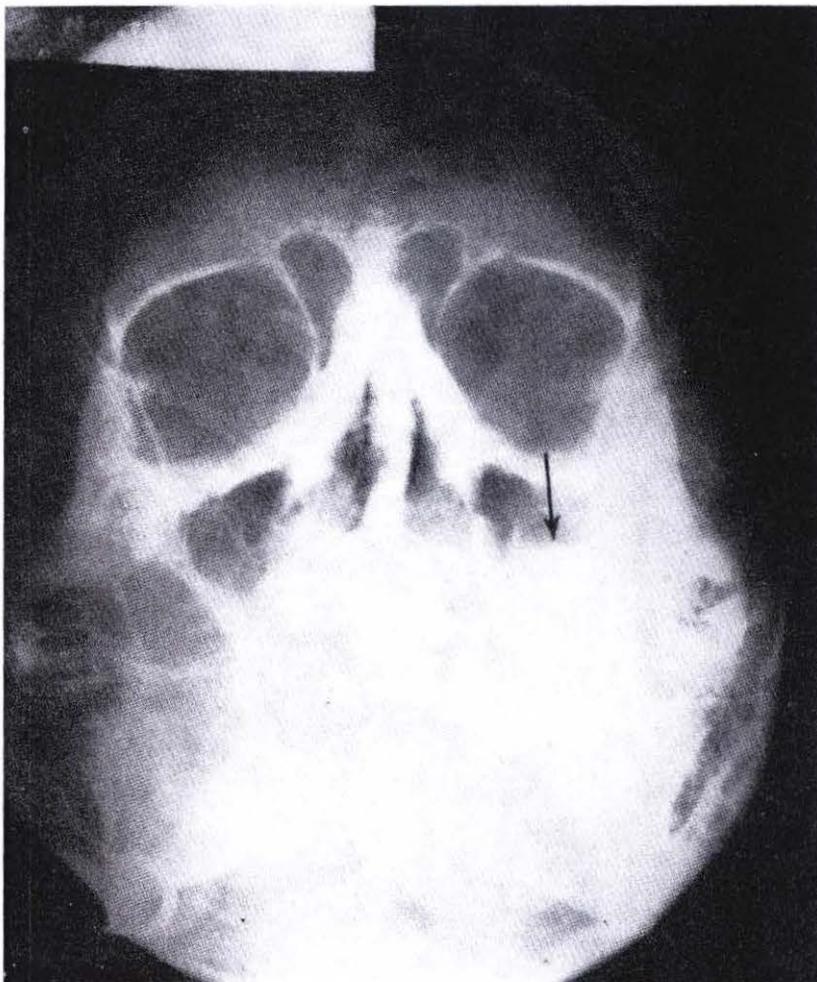


Fig. 3. — Radiografia dei seni paranasali (caso n. 4). Opacità del seno mascellare SN, con limite superiore netto orizzontale (v. testo).

di essudato mucopurulento, che scendono sulla parete posteriore del faringe, leggermente iperemico con noduli linfatici rilevati e congesti.

Alla *rinoscopia posteriore*, la coda dei turbinati inferiori e medi appare modicamente aumentata di volume bilateralmente. Dalla coda dei turbinati inferiori scende verso il rinofaringe una essudazione mucopurulenta. Congesti, bilateralmente, gli orletti tubarici.

Alla *laringoscopia indiretta* la mucosa interarritenoidea si presenta leggermente iperemica e ricoperta di essudato catarrale corpuscolato, denso; le corde vocali, di colorito roseo-pallido, hanno normale mobilità.

Alla *otoscopia* la membrana timpanica destra appare retratta ed opacata con scomparsa del triangolo luminoso, il manico del martello e la « pars flaccida » sono di colorito roseo, più intensamente iperemici i ligamenti timpano malleolari. La membrana timpanica sinistra è opacata, con scomparsa del triangolo luminoso, iperemico il manico del martello e i ligamenti timpano-malleolari, più arrossata la « pars flaccida ».

Altri esami: L'esame audiometrico dimostra la presenza di una modica ipoacusia di tipo di trasmissione, più accentuata a SN. Il massimo deficit, sui 35-40 db. si nota sulle frequenze basse e medie.

All'*esame radiografico dei seni paranasali* si apprezza a carico del seno mascellare SN. una opacità omogenea che interessa la porzione inferiore della cavità e presenta un limite superiore netto, orizzontale (fig. 3). Questo reperto, per le sue caratteristiche, è riferibile alla presenza di un contenuto liquido nella cavità sinusale. Inquadrato nella sintomatologia che interessa la cavità nasale corrispondente, fa pensare ad una compartecipazione del seno alle manifestazioni trasudative-essudative scatenate dall'infestazione parassitaria.

L'esame del secreto nasale ha rivelato una imponente eosinofilia, (pari al 98%).

5) (giugno '63) - C. Mario, a. 50 (Carpineto Romano), pastore.

Anamnesi patologica remota: Il P. riferisce di essere stato più volte infestato dal parassita (per un certo periodo di tempo quasi annualmente) nel periodo dal giugno al settembre. Da 3 anni era indenne da infestazioni.

Anamnesi patologica recente: Il P. è stato colpito all'occhio, e al naso, circa 3 giorni prima del nostro controllo, da larve di *Oestrus ovis*, mentre accudiva al gregge. Riferisce di aver avuto immediatamente una crisi di sternali, accompagnata da idrorrea bilaterale, più accentuata a DS., lacrimazione, fotofobia a carico dell'occhio DS.

Esame obiettivo: Alla *rinoscopia anteriore* la fossa nasale DS. presenta mucosa di colorito roseo, leggermente turgida, specie in corrispon-

denza del turbinato inferiore, che appare modicamente aumentato di volume; secrezione sieromucosa sul pavimento e sul corpo del turbinato medio. La fossa nasale SN. ha mucosa di aspetto e di colorito normale. Leggermente aumentata di volume la testa del turbinato medio. Modica secrezione catarrale sulla testa del turbinato inferiore.

All'esame dell'orofaringe si osserva un normale aspetto della cavità orale e delle tonsille palatine, mentre la parete posteriore del rinofaringe appare leggermente iperemica su tutta la sua superficie e ricoperta da strie di secrezione catarrale più densa di quella presente nella cavità nasale.

La *rinoscopia posteriore* evidenzia la coda dei turbinati inferiori, leggermente aumentata di volume, che presenta a DS. un aspetto granuloso e papillare.

La *laringoscopia indiretta* non pone in evidenza alterazioni apprezzabili.

Alla *otoscopia*, la membrana timpanica DS. appare leggermente opaca con parziale scomparsa del triangolo luminoso, mentre in quella di SN. l'aspetto obiettivo è nei limiti della norma.

All'*esame oculistico* le congiuntive tarsali e bulbari si presentano leggermente iperemiche, di colorito rosso, leggermente edematose. Nel fornice congiuntivale inferiore si apprezza una secrezione catarrale a fiocchi mucosi. La superficie corneale e i mezzi sottostanti non presentano alterazioni evidenti.

Altri esami: negativi l'esame audiometrico, l'esame radiografico dei seni paranasali e l'esame del secreto nasale e oculare.

6) (luglio '63) - V. Bruno, a. 15 (Carpineto Romano) pastore.

Anamnesi patologica remota: Il P. non ricorda alcun episodio di infezione precedente.

Anamnesi patologica recente: Il P. riferisce di aver notato, mentre accudiva al gregge, 8-10 giorni fa, una improvvisa crisi di stertori associata ad idrorrea abbondante e stenosi respiratoria bilaterale. La essudazione sierosa, nel giro di 3-4 giorni, assumeva aspetto catarrale, che ancora mantiene al momento della nostra osservazione.

Esame obiettivo: Alla *rinoscopia* anteriore la mucosa della fossa nasale DS. appare di colorito roseo, mentre i turbinati inferiore e medio sono leggermente aumentati di volume, ricoperti da essudato catarrale che si deposita sul pavimento della cavità. Nella fossa nasale SN., la mucosa è di colorito analogo a quello della cavità controlaterale, leggermente iper-

remica la testa del turbinato medio; nei limiti della norma l'aspetto del turbinato inferiore. Sul pavimento, lievi tracce di essudato catarrale.

L'esame dell'orofaringe non rivela alterazioni apprezzabili.

La rinoscopia posteriore mostra una secrezione catarrale che, dalla coda dei turbinati inferiori, scende verso il cavum. Normali l'aspetto obiettivo e la funzionalità alla *laringoscopia indiretta*.

La otoscopia evidenzia un condotto uditivo DS. parzialmente occluso da un tappo ceruminoso di colorito bruno-scuro che, rimosso, scopre una membrana timpanica di aspetto normale. Nei limiti della norma, gli analoghi reperti di SN.

Poichè il P. è stato esaminato lontano da un centro ospedaliero, non abbiamo potuto praticare indagini audiometriche e radiologiche.

L'esame del secreto nasale non ha permesso di rilevare reperti di qualche interesse.

7) (giugno '63) - T. Domenico, a. 16 (Carbonia, Sardegna), contadino.

Anamnesi patologica remota: Benchè il P. riferisce che da anni la sua famiglia alleva un piccolo numero di pecore, non ricorda precedenti di infestazione nè personali, nè familiari.

Anamnesi patologica recente: Il ragazzo è stato investito al viso da un getto di larve di *Oestrus ovis*, 2 giorni prima, mentre accudiva alla pulizia dell'ovile. I fenomeni irritativi da infestazione si sono manifestati monolateralmente a carico della fossa nasale e della congiuntiva DS., con sternuti, idrorrea particolarmente abbondante, stenosi nasale cospicua, lacrimazione e fotofobia intensa.

Esame obiettivo: Alla *rinoscopia anteriore*, la mucosa della fossa nasale DS. appare di colorito roseo; modicamente turgido il turbinato inferiore: la secrezione è decisamente sierosa abbondantissima, e si accentua per la stimolazione luminosa nel corso dell'endoscopia. Sulla testa del turbinato inferiore abbiamo scorto un piccolo corpo di aspetto vermiforme, mobile, bianco-grigiastro, della lunghezza di circa 1 mm, che nel corso di un tentativo di asportazione, scompariva rapidamente nell'interno della fossa nasale. Nulla di notevole all'esame della fossa nasale SN.

L'esame dell'orofaringe, la rinoscopia posteriore e la laringoscopia indiretta non dimostravano alterazioni obiettivabili.

Alla *otoscopia* la membrana timpanica DS. appare leggermente iperemica sul manico del martello, mentre quella di SN, si presenta normale.

All'*esame oculistico* si nota sensibile iperemia delle congiuntive tarsali e bulbari, che si presentano arrossate e lievemente edematose. La

superficie della mucosa è perfettamente liscia senza alcuna manifestazione infiltrativa. E' presente, specie nel fornice congiuntivale inferiore, una secrezione catarrale in forma di fiocchi mucosi. La superficie corneale non presenta alcuna alterazione patologica e così pure i mezzi sottostanti.

Altri esami: l'esame audiometrico dimostra una normale capacità uditiva.

Con *l'esame radiografico* si apprezzano seni paranasali di sviluppo e trasparenza normali.

TRATTAMENTO TERAPICO

I PP. da noi osservati sono stati trattati con preparati cortisonici (idrocortisone acetato) associato a vasocostrittori (imidazolina cloridrato) e ad un antibiotico (neomicina) per instillazioni nasali ed oculare.

Tutti i soggetti hanno presentato una notevole remissione dei sintomi, già in seconda giornata di trattamento e potevano considerarsi guariti dopo 5-6 giorni.

CONSIDERAZIONI

Da quanto emerge dalla descrizione dei casi venuti alla nostra osservazione, l'infestazione da *Oestrus ovis* delle fosse nasali si manifesta con una sintomatologia relativamente uniforme, che riteniamo possa schematicamente suddividersi in tre fasi.

Il periodo *iniziale* è caratterizzato da sternuti frequenti, idrorrea abbondante, stenosi nasale ingravescente, lacrimazione e fotofobia, specie nei casi in cui si associa una infestazione oculare.

Il periodo di *stato* è contrassegnato da una stenosi nasale stabilizzata, con secrezione catarrale o mucopurulenta più o meno abbondante, spesso associata a cefalea frontale e a ipoacusia mono o bilaterale.

Il periodo *terminale* è contraddistinto, per quanto riferiscono i pazienti da noi interpellati, da progressiva spontanea regressione della sintomatologia, nel giro di 15-30 giorni.

Condizioni contingenti sembrano influenzare l'intensità della sintomatologia e le caratteristiche cliniche obiettive (entità della stenosi nasale, secrezione catarrale o purulenta più o meno abbondante). E' da presumere che il numero di larve infestanti, la reattività generale o locale del soggetto, la flora batterica delle cavità nasali, la sovrapposizione o la preesistenza di manifestazioni infiammatorie di altra natura, le condizioni ambientali e di vita, abbiano la capacità di condizionare il decorso come intensità, durata e varietà di reperti clinici e di laboratorio.

I sintomi, il decorso e l'evoluzione, esaminati analiticamente, appaiono abbastanza caratteristici, ma privi di specificità in rapporto all'agente etio-

logico. Questa sindrome, infatti, al suo esordio assume l'aspetto di una rinite vasomotoria o allergica, ed evolve successivamente come una forma rinitica catarrale o purulenta.

Anche la sintomatologia auricolare, che abbiamo rilevato in un solo caso, secondaria alla condizione reattiva da infestazione, aveva i caratteri obiettivi e audiometrici di un quadro conseguente a stenosi tubarica, senza caratteristiche peculiari.

L'unico elemento che può costituire riferimento alla etiologia, è stato, in un solo caso, la notevole eosinofilia del secreto nasale.

L'esame radiografico ha dimostrato, sia pure in un solo caso, che la mucosa sinusale può essere interessata dalle manifestazioni reattive conseguenti alla infestazione, verosimilmente in relazione alla intensità di tali manifestazioni¹.

Il trattamento delle manifestazioni acute, successive alla infestazione, è fondato, secondo la nostra esperienza, sull'impiego di farmaci capaci di attenuare la reazione delle mucose, come abbiamo avuto modo di osservare nei nostri PP., con un trattamento cortisonico per instillazioni nasali, ed eventualmente con un trattamento antiallergico per via generale.

Un trattamento atto ad agire direttamente sul parassita, se si rilevasse necessario ed utile, dovrà essere studiato non appena sarà possibile accertare meglio il decorso della infestazione nell'ospite umano.

Ci sembra dunque opportuno far rilevare come, nonostante la alta incidenza di questa manifestazione fra i pastori, per cui potrebbe ben a ragione essere considerata come una malattia professionale, e nonostante ripetute segnalazioni della letteratura, la rinomiasi da *Oestrus ovis* è assai poco conosciuta dal punto di vista otorinolaringoiatrico e non è affatto citata nei libri di testo. Varrebbe quindi la pena approfondirne le conoscenze con lo studio dettagliato di un maggior numero di casi, specie dal punto di vista clinico e terapeutico e con la pubblicazione delle notizie relative su riviste specializzate, affinché l'argomento sia conosciuto meglio e da un maggior numero di sanitari.

Teniamo ad esternare la nostra riconoscenza al dott. Vincenzo Mele, Medico Provinciale di Latina, per l'incoraggiamento dato al nostro lavoro, e all'oculista Dott. Franco Tonelli, il quale ha gentilmente preso in esame il caso contrassegnato col n. 6.

30 dicembre 1963.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) ATIAS M. A., DONCKASTER R. R., SCHENONE F. H. e OLIVARES M. - Bol. Chileno Paras. 15, 37 (1960).
- (²) BASU B. C., BALARAMA MENON P. e SEN GUPTA C. M. - Indian Med. Gaz., n. 6, 321 (1953).

- (³) DOURY P. - Arch. Inst. Pasteur Algérie, 35, 76 (1957).
- (⁴) DU TOIT R. MEYER HENNIE - Sth afr. Med. J., 34, 581 (1960).
- (⁵) KOIDE S. S. - Hawaii Med. J. 15, 460 (1956).
- (⁶) LEÒN L. A. e ANDRADE M. - Rev. Ecuatoriana Entom. Paras., 2, 377 (1954-1955).
- (⁷) LEÒN L. A. e ANDRADE M. - Bol. Lab. Clinica « Luis Razetti », 16, 621 (1955).
- (⁸) MAZIDIS S. P. e XIROCASTAS C. - Acta Microbiol. Hellenica, 3, 89 (1958).
- (⁹) NICHELATTI P. - Ann. Ottal., 58, 1001 (1930).
- (¹⁰) PAMPIGLIONE S. - Nuovi Ann. Ig. Microbiol., 8, 410 (1957).
- (¹¹) PAMPIGLIONE S. - Nuovi Ann. Ig. Microbiol., 8, 56 (1957).
- (¹²) SCHERF H. - Beitr. Ent., 10, 402 (1960).
- (¹³) SERCENT Ed. - Arch. Inst. Pasteur Algérie, 30, 319 (1952).
- (¹⁴) TITA C. - Rass. Ital. Ottal., 4, 613 (1935).
- (¹⁵) CHAMBERLAIN W. F., GATTERDAM P. E. e HOPKINS D. E. - J. econ. Ent., 54, 733 (1961).
- (¹⁶) CHAVARRIA Ch. M. e AVILA CARILLO R. - Zbl. Vet. Med., 6, 167 (1959).
- (¹⁷) DRUMMOND R. O. - J. Paras., 48, 211 (1962).
- (¹⁸) DU TOIT R. e FIEDLER O. G. H. - J. Vet. Res., 27, 67 (1956).
- (¹⁹) MILLER J. H. JOHNSON H. E. e STOUT A. L. - J. Am. Vet. Med. Ass., 138, 431 (1961).
- (²⁰) PETERSON H. O., JONES E. M. e COBBETT N. G. - Am. J. Vet. Res., 19, 129 (1958).
- (²¹) STAMPA S. e POLS J. W. - Vet. Med. Nach., 4, 239 (1960).
- (²²) PAMPIGLIONE S. - Nuovi Ann. Ig. Microbiol., 9, 242 (1958).
- (²³) PAMPIGLIONE S. - Nuovi Ann. Ig. Microbiol., 9, 1 (1958).