

Articoli/Articles

VINCENZO TIBERIO: LA PRIMA ANTIBIOTICO-TERAPIA  
SPERIMENTALE *IN VIVO*

MARCELLA TAMBURELLO, GIOVANNI VILLONE  
Dipartimento di Medicina e Scienze della Salute “*Vincenzo Tiberio*”  
Università degli Studi del Molise, I

*SUMMARY*

*VINCENZO TIBERIO: THE FIRST IN VIVO  
EXPERIMENTAL ANTIBIOTIC THERAPY*

*This paper describes the first in vivo experimental antibiotic therapy in the history of Medicine. In 1895, in Arzano (Naples, Italy), the physician and scientist Vincenzo Tiberio discovered the bactericidal power of the molds. Tiberio analyzed three molds (i.e., Aspergillus flavescens, Penicillium glaucum, Mucor mucedo) in the laboratory, first in vitro and then in vivo on mice and rabbits. He carried out the whole experimental cycle: from the discovery to the observation of the phenomenon, to the analysis in the laboratory, and to the production of the medicine. Vincenzo Tiberio discovered the penicillin almost thirty years earlier than Alexander Fleming.*

*What he lacked was the mass production and industrialization of the drug. Why? Fault of the society? Economic and cultural backwardness of Italy? Probably the international scientific community was not ready for such a revolutionary discovery, that would have saved millions of lives.*

Vincenzo Tiberio nacque a Sepino (Campobasso) il 1° maggio 1869. Ben presto manifestò un interesse particolare per le scienze naturali: fin da piccolissimo faceva lunghe passeggiate nelle campagne e sulle montagne molisane raccogliendo farfalle, minerali e

*Key words:* Vincenzo Tiberio - *In vivo* experimental antibiotic therapy -  
Discovery of antibiotics

piante che poi analizzava e catalogava, riportando le sue osservazioni su di un quaderno. Dopo aver conseguito la Licenza presso il Liceo classico Mario Pagano di Campobasso, il suo interesse naturalistico lo spinse ad iscriversi alla Facoltà di Medicina e Chirurgia di Napoli. Nel 1892 fu accolto come studente interno dell'Istituto d'Igiene, diretto dal molisano Eugenio Fazio<sup>1</sup>, dove apprese le metodiche di laboratorio batteriologico e chimico. Nel settembre del 1893 conseguì la laurea, in anticipo di un anno sul piano di studi. Successivamente si iscrisse al corso di Igiene Pubblica per aspiranti Ufficiali Sanitari e a questi corsi partecipò anche come docente, avendo nel frattempo ricevuto l'incarico di Assistente Volontario. Divenuto Assistente Ordinario nel 1894, con nomina annuale rinnovabile, nell'Istituto di Patologia Speciale Medica Dimostrativa, entrò a contatto con illustri maestri che improntarono del loro carattere il clima culturale della medicina napoletana dell'epoca, come Gaetano Rummo<sup>2</sup>, che aveva lasciato la direzione della Clinica Medica di Siena per venire a sostituire, nella direzione della Patologia Speciale Medica Dimostrativa napoletana, il molisano Antonio Cardarelli<sup>3</sup> che, nel frattempo, era sempre lì passato alla Seconda Clinica Medica.

Nonostante ciò, ancor prima di terminare il suo primo anno di assistentato, Tiberio fece una scelta drastica partecipando e vincendo il concorso per Ufficiale medico della Marina Militare e abbandonando così la carriera universitaria. Ad una tale decisione non furono estranee motivazioni economiche (il compenso era triplo rispetto a quello accademico), sentimentali<sup>4</sup> e patriottiche. Con molta probabilità, Vincenzo Tiberio aveva maturato, già precedentemente, il desiderio di partecipare ai concorsi della Marina Militare; infatti, "dalla lettura dei suoi diari emerge tutto il suo orgoglio per la divisa che portava, per l'appartenenza alla Marina e per la vita a bordo delle navi e per la Bandiera Italiana. La cosa non ci deve meravigliare se consideriamo il fatto che lui fece parte della prima generazione di

italiani nati dopo la costituzione dello stato unitario, educati quindi allo spirito del risorgimento ed all'amor di Patria"<sup>5</sup>. E, infine, non si può per nulla escludere che la sua decisione sia stata motivata anche dalla delusione nei confronti della tiepida reazione che nel suo Istituto trovò la sua seconda e più innovativa pubblicazione sul potere batteriostatico e battericida delle muffe.

Dopo il lavoro sulle muffe, Tiberio partì, in qualità di medico della Marina Militare, per la Campagna d'Africa ma, nonostante ciò, mai smise di fare ricerca, focalizzandole su temi quali la salute dei marinai, le epidemie tropicali, l'approvvigionamento di acqua pura, rendendosi autore di vari lavori scientifici sulle modalità per debellare le epidemie di tifo, paratifo, enteriti, dissenteria, febbri malariche, beri-beri, vaiolo e altre malattie tipiche dei paesi tropicali, quali framboesia, filariosi, elefantiasi, anchilostomiasi intestinale, malattia del sonno.

Dal gennaio 1913 al gennaio 1914 fu Direttore dell'Infermeria della base navale di Tobruk in Libia e del relativo Gabinetto Scientifico; rientrato in Italia nel gennaio 1914, venne nominato Direttore del Gabinetto di Batteriologia e Igiene dell'Ospedale Militare Marittimo di Venezia e da qui trasferito alla direzione del Gabinetto di Igiene e Batteriologia dell'Ospedale della Marina a Piedigrotta in Napoli.

In tutti questi anni, il suo amore principale era rimasto, innegabilmente, la ricerca e in modo particolare la batteriologia, come si evince dalle sue memorie: "una sua foto al microscopio inviata ai genitori porta la scritta *"Vincenzo in un momento di benessere!"*"; un'altra inviata alla moglie, nella dedica, esprime tutta la simbiosi tra ricerca scientifica e sentimenti umani: *"Chi cerca trova, lunga e difficile è la ricerca e, spesso, nella Vita unica fonte è l'amore!"*"<sup>6</sup>. Sfortunatamente Vincenzo Tiberio non ebbe il tempo di portare avanti i suoi studi, poiché, il 7 gennaio 1915, fu stroncato da un infarto del miocardio, all'età di soli 45 anni.

Vincenzo Tiberio, per frequentare la Facoltà di Medicina e Chirurgia di Napoli, punto di riferimento per gli studenti molisani, si trasferì a vivere ad Arzano, nella casa degli zii Graniero. Nell'atrio della casa c'era un pozzo dove era raccolta l'acqua piovana che veniva attinta dalla famiglia per gli usi domestici e per bere. Periodicamente da quel pozzo veniva tolta la muffa che si creava, a causa dell'umidità, sulle sue pareti e in questi casi tutti coloro che bevevano quell'acqua si ammalavano di infezioni intestinali, cosa che non avveniva, invece, nei periodi in cui erano presenti le muffe. Come mai l'acqua del pozzo era potabile solo in presenza delle muffe?

Per Tiberio, "uomo abituato per indole a guardare 'esplorando' la natura degli luoghi e gli inserimenti umani"<sup>7</sup>, fu facile pensare ad un legame di causa - effetto, quindi ad un collegamento tra la presenza dei miceti e l'inibizione della crescita dei batteri patogeni, per cui decise di analizzare le muffe del pozzo in laboratorio.

D'altra parte, un'azione delle muffe era già sicuramente nota anche ai medici della Grecia e di Roma antica, i quali le impiegavano sotto forma di poltiglia per ricoprire le ferite ed evitare così le infezioni; ancor prima, "nel 2500 a.C. i cinesi utilizzavano la muffa della soia contro le infezioni superficiali, i Maya muffe di cereali, e nella medicina popolare di ogni civiltà si è sempre fatto uso del muschio, delle tele di ragno, o ancora, del decotto di tegole e della polvere che si accumulava sulle travi"<sup>8</sup>.

Per il giovane Tiberio, quindi, nel pozzo della casa di Arzano si era verosimilmente verificato il fenomeno dell'antibiosi, l'azione antagonista esistente tra microrganismi viventi, che, nel 1889, era stata descritta e studiata dal biologo francese Paul Vuillemin, che "creò il termine di antibiosi (antagonismo biotico) dalla fusione di due parole greche: *anti* = contro e *bios* = vita, da cui derivò, poi, il termine di antibiotico"<sup>9</sup>.

"Sugli estratti di alcune muffe - Ricerche del dottor Vincenzo Tiberio"<sup>10</sup>, lavoro che risulta fatto presso l'istituto d'Igiene della R.

Università di Napoli, è di dodici pagine, comprese le cinque pagine col protocollo delle esperienze eseguite e dei risultati ottenuti. È un saggio sobrio e conciso, ricco di osservazioni acute e precise, che rivelano un indagatore intelligente, attentissimo, appassionato<sup>11</sup> e che svela la grande competenza di Tiberio “nel campo dell’Igiene applicata ai vari settori in cui è divisa la moderna Igiene: epidemiologia e profilassi delle malattie infettive; igiene della alimentazione; igiene degli ambienti confinati”<sup>12</sup>.

Tiberio inizia il proprio lavoro inscrendolo sostanzialmente nell’ambito del concetto di biocenosi, cioè della interazione tra viventi.

*Nei processi di evoluzione della materia organica ed organizzata, se una parte importantissima è rappresentata dal molto diffuso ed interessante gruppo degli schizomiceti, non meno importanti sono, sotto questi riguardi, i funghi di ordine superiore, i ficomiceti, i micomiceti, ecc. Diffusi, come i primi, in natura, e forniti di mezzi di riproduzione di straordinaria resistenza ai comuni agenti fisici e chimici, con specie molteplici saprofitiche e parasitarie, a volte pare che ostacolino, nella lotta per la vita, lo sviluppo degli schizomiceti, a volte li sostituiscono senz’altro, o ne completano i processi di trasformazione incominciati, come si osserva di frequente nelle putrefazioni. Quali rapporti esistono nella concorrenza vitale fra questi diversi gruppi di funghi? Esiste, e qual è la reciproca influenza dei prodotti del loro ricambio materiale?*

*Nell’attuale stato della scienza rispondere a questi problemi è ben difficile. Vicino alla ricca letteratura sugli schizomiceti, che, per il numero di specie patogene per l’uomo, richiamarono più l’attenzione degli osservatori, quasi nulla è quella dei funghi che vanno comunemente sotto il nome generico di ifomiceti, o, più semplicemente, di muffe<sup>13</sup>.*

Il percorso intellettuale del medico molisano per dimostrare il potere battericida degli estratti di alcune muffe su determinati microbi seguì le tappe che vanno dall’ipotesi all’osservazione microscopica e dallo studio *in vitro* alla verifica sperimentale *in vivo*.

Dopo l’intuizione e la raccolta dei campioni, infatti, Vincenzo Tiberio osservò al microscopio ed identificò tre specie di muffe prelevate nel

pozzo di Arzano: *Aspergillus flavescens*, patogeno per l'uomo e per gli animali; *Penicillium glaucum* e *Mucor mucedo*, non patogeni. Successivamente le coltivò, su terreni di coltura da lui preparati.

*Furono consigliati vari mezzi per la cultura degli ifomiceti, più o meno favorevoli allo sviluppo delle diverse specie, [...]. Non sapendo quanto il substrato nutritivo avesse potuto influire sull'esito delle mie ricerche, e premendomi soprattutto di avere un terreno di coltura, che, mentre da una parte si avvicinasse alla composizione ed allo stato che più ordinariamente offrono le sostanze sulle quali si sviluppano gli ifomiceti in natura, d'altra parte fosse di facile preparazione e di composizione chimica possibilmente costante<sup>14</sup>, scartai la pasta di pane pestato, comunemente usata nelle culture di questa specie di funghi, e ricorsi alla colla di amido con l'aggiunta di gelatina, come sostanza organica azotata<sup>15</sup>.*

Preparò, quindi, un estratto acquoso dei singoli miceti e ne studiò l'azione su alcuni batteri, quali quelli del tifo, del carbonchio, del colera e vari ceppi di stafilococco. I risultati della ricerca gli consentirono di osservare che, nella sostanza cellulare delle muffe esaminate, erano contenuti alcuni principi solubili in acqua, forniti di azione battericida. Lo studio, fatto in più esemplari e ripetuto parecchie volte, fu effettuato sia in provetta che in gocce pendenti.

*Bacillo del carbonchio. - Le spore resistono senza svilupparsi sino a 7-8 giorni, dopo il qual tempo, poste in terreni adatti, non danno più sviluppo di colonie. I bacilli, dopo 40 ore nel liquido di Asp. e Penn. e circa 50 ore in quello di Mu., muoiono. In goccia pendente non si osserva sviluppo di sorta né delle spore, né dei bacilli, e questi, dopo 72 ore, specie quelli disposti a filamenti, si mostrano come frammentati ed irregolari: disseccate e colorate le gocce, si osserva colorazione scarsa ed a tratti: granuli lievemente colorati. Nei tubi e gocce pendenti di brodo per controllo lo sviluppo è normale, e quale viene comunemente descritto.*

*Bacillo del tifo. - Dopo 3 giorni i tubi con liquido di Asp. e Mucor, e dopo circa 4 quelli di Penn., rimangono sterili senza aver fatto notare alcuno sviluppo apparente. In gocce pendenti il movimento caratteristico, vivace da principio, si rallenta presto, e dopo 6 ore a 7 si nota solo qualche*

*oscillazione. La cultura finisce col raccogliersi al fondo della goccia: dopo due giorni, se colorate, si notano tutti i bacilli aggruppati nel mezzo del preparato, scarsamente e non uniformemente colorati. Lo sviluppo è rigoglioso nei controlli, la colorazione nitida ed uniforme.*

*Bacillo del colon (bacillo di Emmerich). - Nei tubi si ha lievissima opalescenza nei primi due o tre giorni, ma questa finisce presto collo svanire, rimanendo un leggero deposito bianchiccio al fondo della provetta. La vitalità per l'Asp. dura sino al quinto giorno, per il Mu. ed il Penn. sino a circa il settimo. Nelle gocce pendenti, il movimento dura per 15 ore circa: dopo 24 ore tutta la cultura è raccolta al centro della goccia come punto bianchiccio. La colorazione di questa fa notare un denso accumulo di batteri al centro del preparato, contornato da un alone di batteri più radi, inegualmente colorati, come a vacuoli. Nei controlli lo sviluppo è intensissimo: il movimento dura oltre 50 ore.*

*Vibrione del colera. - Inoculate da rigogliose culture in brodo di 48 ore, sei anse in provette con liquido di muffe, queste si conservano limpide, e dopo 24 ore quello di Asp., e quasi 2 giorni quello di Muc. e Penn. rimangono sterili. Nelle gocce pendenti il movimento dura poche ore, 3-5, e rimane in seguito al margine della goccia qualche granulo rinfrangente la luce e qualche bacillo immobile fortemente incurvato. La colorazione della goccia dopo 24 ore fa vedere, i bacilli inoculati, aggruppati, informi, colorati irregolarmente, commisti a qualche raro spirillo. Nei confronti lo sviluppo è regolare e caratteristico.*

*Vibrione del Metchnikoff e vibrione del Finkler. - Si comportano quasi come il vibrione del colera. Le provette di Asp. rimangono sterili dopo 24 ore; quelle di Muc. e Penn. dopo 40 ore circa. Il movimento nelle gocce pendenti dura pochissimo (4 ore) e dopo 24 ore i bacilli rimangono alterati, moltissimi come divisi in granuli. Nei controlli non si nota alcun che di caratteristico.*

*Micrococco tetragono. - La vitalità nel liquido di muffe dura circa 2 giorni: nei controlli si conserva oltre il decimo giorno.*

*Stafilococco piogene aureo, albo, citreo. Streptococco piogene. - Da rigogliose culture su agar portati piuttosto in copia nel liquido di muffe dopo un giorno sono uccisi: lo stafilococco portato alla dose cmc. 0.50 della diluizione nel liquido di muffe su agar in scatole di Petri, dà luogo allo sviluppo di rade colonie: lo streptococco nelle stesse condizioni, dopo 10 ore, non dà alcun sviluppo. Dei pezzetti di cultura, grandi quanto una piccola testa di spillo, tenuti per un giorno nei liquidi in esame, e poi schiacciati*

*su agar, danno solo rare colonie. Colorati, si ha la scarsa colorazione e non uniforme, con nessuna apparente alterazione morfologica. Nei saggi di controllo lo sviluppo è regolare.*

*Proteo mirabile. B. fluorescente non e liquefaciente. - Dopo 48 ore a 60 le provette rimangono sterili restando al fondo un punticino bianchiccio formato dai batteri inoculati abbondantemente, deformati e a scarsa colorazione. Nulla di notevole si ha nei controlli dove lo sviluppo è rapido ed intenso<sup>16</sup>.*

Si trattava della prima vera attività antibiotica dimostrata *in vitro*, che il Tiberio confermò attraverso la sperimentazione *in vivo*, sia su cavie che su conigli. Le cavie erano divise in due gruppi: il primo gruppo era infettato mediante iniezione in peritoneo di specie batteriche patogene e trattato mediante inoculo dell'estratto acquoso di muffe; il secondo era solo infettato ma non trattato. Gli animali trattati sopravvivevano mentre gli altri morivano in breve tempo.

*Iniettava, con la siringa del Tursini sterilizzata, nel peritoneo di robuste cavie cmc. 2-5 di liquido di muffe del p. s. 1006-1007 diluito con altrettanto di acqua distillata sterile. Dopo 3 e 6 ore, fatta una piccola incisione su uno dei punti più declivi del quadrante inferiore della parete addominale sino a vedere la superficie esterna del peritoneo, perforavo questo con una pipetta capillare, pipettavo una determinata quantità di liquido, e con questo faceva un preparato che mi lasciava giudicare con l'osservazione microscopica l'approssimativa quantità di leucociti: come termine di paragone mi servo di preparati fatti nell'istesso modo da cavie iniettate con acqua distillata sterilizzata. Per ogni liquido feci quattro osservazioni, due dopo 3 ore e due dopo 6 ore dall'iniezione, potendo constatare che:*

*1° L'acqua distillata sterilizzata nella cavità peritoneale delle cavie ha mediocre potere leucocitico: la leucocitosi, abbastanza rilevante dopo 3 ore, è di poco relativamente aumentata dopo 6 ore;*

*2° Il liquido dall'aspergillo ha rilevante potere leucocitico visto dopo 3 ore: dopo 6 ore non dà a vedere aumento rilevante;*

*3° I liquidi dal Mucor e dal Pennicillium non offrono per il numero dei leucociti differenze apprezzabili rispetto all'acqua distillata, né dopo 3, né dopo 6 ore.*



*Non tenni calcolo per nulla di quelle esperienze nelle quali, per innesto di liquido peritoneale in agar o gelatina, potei constatare la non completa asepsi nelle operazioni.*

*I liquidi ottenuti dalle muffe in esame furono iniettati fino al 4% del peso delle cavie ...<sup>17</sup>.*

È appena il caso di sottolineare l'assoluta modernità del disegno sperimentale con l'allestimento di adeguati controlli e con l'attenta valutazione della virulenza delle culture e del peso degli animali da esperimento, che doveva essere simile da un animale all'altro per non cadere nell'errore della diversa resistenza organica. Di pari modernità l'autolimitazione critica nell'uso dei dati derivanti da condizioni sperimentali non ottimali.

Per lo studio della leucocitosi sottocutanea, il Tiberio scelse, invece, i conigli, rifacendosi per il metodo, con esplicita citazione, al lavoro di Issaeff pubblicato l'anno precedente (1894) in tedesco sulla Zeitschrift für Hygiene: *Untersuchungen über die künstliche Immunität gegen Cholera*.

*Dei tubicini di vetro lunghi cm. 2,5-3,0 ripieni a metà circa di liquido di muffe, e chiusi ad un estremo alla lampada, venivano con una doccia, fissata ad una bacchetta di vetro, portati, attraverso una piccola incisione alla cute del dorso, nel connettivo sottocutaneo: ad ogni lato era posto anche un tubicino contenente semplice acqua distillata sterile che mi serviva di paragone: la incisione era chiusa con collodion. Dopo 24 ore erano asportati i tubicini, e, riscaldando l'estremo chiuso, per la dilatazione dell'aria, in quel punto racchiusa, veniva fuori il contenuto che, raccolto su di un vetrino, era osservato senz'altro al microscopio a mediocre ingrandimento. La quantità dei leucociti potevasi anche vedere ad occhio nudo come uno zaffo bianchiccio, oppure, meglio, osservando il tubicino a piccolo ingrandimento. Sia nel riempimento dei tubicini, che nella introduzione di essi nel connettivo sottocutaneo, procedeva asetticamente, e me ne assicurava anche dagli innesti che ne faceva su agar dopo averli cavati. Per ogni muffa ho fatto al minimo quattro osservazioni ed ho trovato che: 1° Il liquido avuto dall'Asp. flavescens è dotato di notevole potere chemiotattico;*

- 2° L'acqua distillata sterilizzata ha potere chemiotattico quasi nullo;  
 3° I liquidi avuti dal *Penicillium* e dal *Muc. mucedo* hanno potere chemiotattico scarso, ma sempre apprezzabile<sup>18</sup>.

Le conclusioni a cui giunse lo scienziato molisano furono:

- 1° Il solo liquido avuto dall'*Aspergillus flavescens* esercita un'azione positiva nelle infezioni sperimentali da bacillo del tifo e vibrione del colera;  
 2° Come tale questo liquido ha un'azione preventiva, tab. III, e terapeutica, tab. I e III, che per la quantità di liquido iniettato - 1% del peso della cavia - ed per il suo p. s. 1006, si estende la prima per circa 8 giorni, rimanendo al 10° giorno quasi nulla (solo ritardo nella morte dei soggetti); la seconda solo fino a che l'infezione non è di tanto progredita da rendere vana ogni azione;  
 3° Posti questi fatti in relazione con quanto fu osservato nella leucocitosi, si può asserire che tale azione si esplica in parte per il potere battericida posseduto dalle sostanze cellulari dell'*Aspergillus*, ma, in massima parte, per l'attiva leucocitosi che suscitano<sup>19</sup>.

Risulta evidente che l'unica risposta terapeutica ottenibile era quella mediante iniezione di estratto di *Aspergillus flavescens*, cioè, in so-

TABELLA I.

Iniezione contemporanea nella cavità peritoneale di liquido di muffe (1 % del peso della cavia) e di cultura in brodo di

	B. del tifo				V. del colera			
	Peso dello cavia gr.	Liquido di muffa emc.	Cultura emc.	ESITO	Peso dello cavia gr.	Liquido di muffa emc.	Cultura emc.	ESITO
Muc. mucedo	270	2.7	1	Morte tra 12-18 ore	300	3.0	0.6	Morte dopo 7-18 ore
	480	4.8	1.9		300	3.0	0.6	
	300	3.0	1.2		250	2.5	0.5	
	350	3.5	1.4		230	2.3	0.55	
	290	2.9	1.16		320	3.2	0.64	
	245	2.5	0.98		300	3.0	0.6	
Penicill. glaucum	300	3.0	1.2	200	2.0	0.4		
	390	2.9	1.2	300	3.0	0.6		
Aspergillus flavescens	420	4.2	2.1	Dopo 8 giorni stanno bene: son poste fuori oss.	195	2.0	0.4	Dopo 8 giorni stanno bene e son poste fuori osservazione
	480	4.8	1.9		400	4.0	0.8	
	320	3.2	1.6		250	2.5	0.5	
	200	2.0	0.8		250	3.5	0.5	
Controlli	330	—	1.3	Morte tra 8-15 ore	200	—	0.4	Morte dopo 10-12 ore
	320	—	1.3		230	—	0.55	
	470	—	2.4		350	—	0.7	

TABELLA III.

Iniezione nella cavità peritoneale di cultura in brodo di b. del tifo (0.40 %) e del v. del colera seguita dopo 2-4-6 ore da iniezione di liquido dall'aspergillo.

Peso delle cavie gr.	Tifo					ESITO	Colera					ESITO
	Cultura di emc.	Ora dell'iniez.	Liquido di Asperg. emc.	Ora dell'iniez.			Peso dell'ovina emc.	Cultura di emc.	Ora dell'iniez.	Liquido di Asperg. emc.	Ora dell'iniez.	
220	0.9	9	2.2	11	Sopravvivono	290	0.58	12.30	2.9	14.30	Sopravvivono	
450	1.6	»	4.5	»		285	0.57	»	2.9	»		
330	1.3	»	3.3	13		260	0.52	»	2.6	16.30	Morta dopo 18 ore	
580	2.3	»	5.8	»		200	0.40	»	2.0	»	Sopravvive	
400	1.6	»	4.0	15		230	0.56	»	2.8	18.30	Abbatute al momento della 3ª iniez. muoiono quasi subito dopo	
330	1.3	»	3.3	»	Morte tra 12-16 ore dopo	220	0.44	»	2.2	»	Morte dopo 8-10 ore	
200	0.8	»	controlli			400	0.80	»	controlli			
400	1.6	»	controlli			280	0.56	»	controlli			

stanza, di una penicillina, mentre non avevano alcuna efficacia gli estratti di *Mucor mucedo* e *Penicillium glaucum* neppure se iniettati alla dose del 2% del peso corporeo dell'animale<sup>20</sup>.

Da notare, ancora, come l'efficacia fosse condizionata sia dal peso dell'animale da esperimento che dalla lunghezza dell'intervallo di tempo tra l'infezione e l'inizio della antibiotico-terapia iniettiva. Tiberio si pose anche il problema della possibilità di un'azione preventiva espletata dagli estratti di muffe sulle infezioni batteriche nonché sulla possibilità di una loro efficacia a distanza.

*Vollì osservare anche se, posti in circolazione i liquidi dalle muffe, avessero azione sulle infezioni peritoneali, tab. IV. Iniettavo l'1% dei liquidi da Asp., Pen e da Muc. nel connettivo sottocutaneo del dorso, e dopo un'ora la cultura nel peritoneo. Il risultato fu negativo, se toglì per il tifo che dette a notare un certo ritardo nella morte dell'animale*<sup>21</sup>.

Tiberio, infine, si pose il problema della durata dell'efficacia dell'azione antibiotica, sperimentando iniezioni a tempi diversi dell'estratto di muffe.

Marcella Tamburello, Giovanni Villone

TABELLA II.

Iniezione nella cavità peritoneale di liquido di *Asp. flavescens* (1%) seguita dopo 2-6-24 ore, 5-10 giorni da iniezione di cultura in brodo di

B. del tifo					V. del colera						
Peso delle cavie gr.	Liquido di asperg. emc.	Ora dell'iniez.	Cultura di tifo emc.	Ora dell'iniez.	ESITO	Peso delle cavie gr.	Liquido di asperg. emc.	Ora dell'iniez.	Cultura di colera emc.	Ora dell'iniez.	ESITO
310	3.1	9	1.2	11	} Sopravvivono	400	4.0	9.30	0.8	11.30	} Sopravvivono
350	3.3	»	1.3	»		320	3.2	»	0.65	»	
300	3.0	»	1.2	15		380	3.8	»	0.76	15.30	
300	3.0	»	1.2	»		380	3.8	»	0.76	»	
Dopo 24 ore.											
320	3.2	9	1.3	9	} Sopravvivono	360	3.6	9.30	0.72	9.30	} Sopravvivono
310	3.1	»	1.25	»		280	2.8	»	0.56	9.30	
300	} Controlli	}	1.2	13	} Morte d. 15-18 ore	400	} Controlli	}	0.8	13.30	} Morte dopo 8-10 ore
305			1.2	15		0.45			15.30		
Dopo 5 giorni.											
400	4.0	12/7	1.6	17/7	} Sopravvivono	350	3.5	12/7	0.7	17/7	} Sopravvivono
300	3.0	»	1.2	»		400	4.0	»	0.8	»	
250	2.5	»	1.0	»		330	3.3	»	0.66	»	
420	4.2	»	1.7	»		380	3.8	»	0.76	»	
325	} Controlli	}	1.3	»	} Morte dopo 15 ore	325	} Controlli	}	0.65	»	} Morte dopo 8-10 ore
360			1.45	»		410			0.72	»	
Dopo 10 giorni.											
340	3.4	13/7	1.35	23/7	} Morte dopo 30 ore	310	3.1	12/7	0.63	22/7	} Morte dopo 24 ore
340	3.4	»	1.35	»		» 25 »	350	3.5	»	0.7	
390	} Controlli	}	1.5	»	} Morte dopo 16 ore circa	205	} Controlli	}	0.41	»	} Morte dopo 8 ore
360			1.45	»		280			0.56	»	

Per ricercare per quanto tempo il liquido dall'*Asp.* avesse esercitato questo suo speciale potere iniettai, tab. II, prima il liquido della muffa e poi, dopo 2- 6-24 ore 5-10 giorni, la dose letale di cultura; le cavie sopravvissero tutte, eccetto quelle iniettate dopo 10 giorni, che fecero notare un ritardo nella morte rispetto ai controlli<sup>22</sup>.

TABELLA IV.

Iniezione sottocutanea di liquido dalle muffe (1%) seguita dopo un'ora da iniezione nel peritoneo di cultura in brodo di

B. del tifo					V. del colera			
	Peso delle cavie gr.	Liquido di muffa emc.	Cultura di tifo emc.	ESITO	Peso delle cavie gr.	Liquido di muffe emc.	Cultura di colera emc.	ESITO
Muc. mucedo	250	2.5	1	Muore dopo 16 ore	300	3.0	0.5	} Morte tra 8-13 ore
	200	2.0	0.8	» 28 »	230	2.3	0.55	
Penm. glaucum	300	3.0	1.2	» 11 »	400	4.0	0.8	
	320	3.2	1.3	» » »	394	4.0	0.8	
Asp. flav.	330	3.3	1.3	» 18 »	250	2.5	0.5	
	325	3.2	1.3	» 20 »	240	2.4	0.5	
Controlli	400	—	1.6	» 10 »	230	—	0.25	

Come si può chiaramente notare, dunque, l'attività di ricerca scientifica di Tiberio completò l'intero ciclo sperimentale: dall'osservazione, alla verifica dell'ipotesi iniziale, alla preparazione della sostanza antibiotica, alla dimostrazione del suo effetto *in vitro*, alla documentazione della sua efficacia *in vivo*, alla proposta di una ipotesi di meccanismo di azione mediante lo studio delle modificazioni dell'assetto leucocitario. Tiberio valutò anche le dosi efficaci ed i tempi di durata dell'efficacia antibiotica dei suoi estratti.

Cosa mancò, quindi, per chiudere il cerchio e rendere la sua scoperta rivoluzionaria uno strumento concreto di lotta alle infezioni batteriche patogene? In parte tocca concordare con Sterpellone quando nota che gli "Annali" avevano una diffusione assai scarsa, e la lingua italiana veniva difficilmente letta in ambito scientifico straniero. A poco servirono le sollecitazioni di Tiberio presso le autorità sanitarie militari, occupati com'erano nella disastrosa campagna d'Africa voluta dalla politica colonialistica del governo Crispi. Anzi, considerato che lì sarebbe stato più utile, le autorità lo imbarcarono verso le coste africane<sup>23</sup>. In altra parte rilevano le osservazioni di Covelli: "Non vi è alcun dubbio che la ... "scoperta" di Vincenzo Tiberio era troppo avveniristica per non passare inosservata nell'epoca nella quale essa si è verificata: l'uomo era quello *giusto*, il posto era anch'esso *giusto*, almeno fino ad un certo punto; mi domando, infatti, cosa sarebbe avvenuto se il lavoro fosse stato pubblicato in lingua tedesca, francese od inglese, su una rivista internazionale dell'epoca! Infine, quello che non era *giusto*, fu il momento: le basi culturali non erano mature e sufficientemente approfondite e l'apparizione del lavoro fu troppo fugace da poter essere seguita"<sup>24</sup>. E ancora è possibile condividere i rilievi di Palumbo: "Le ovvie carenze della biochimica e della biologia molecolare erano tali alla fine del secolo scorso da non permettere che le intelligenti indagini del Tiberio potessero approdare ai risultati concreti che 50 anni dopo permisero l'avvento in terapia della miracolosa penicillina"<sup>25</sup> con un Paese ancora, innegabilmen-

te, arretrato, che non comprese neppure l'importanza della scoperta di Tiberio, "quella che sarebbe stata chiamata penicillina e avrebbe cambiato la storia dell'umanità. [...] e fino agli anni Quaranta del Novecento si continuerà a morire per banali infezioni"<sup>26</sup>.

Ma ciò che davvero mancò fu, in effetti, quello che mancò anche ad Alexander Fleming trentaquattro anni dopo, quando, nel 1929, riscoprendo la penicillina, estraendola da *Penicillium notatum*, parimenti non riuscì a produrre industrialmente il farmaco. Mancavano consapevolezza e tecnologie che sarebbero cresciute solo dopo un ulteriore decennio. La produzione del farmaco su scala industriale, infatti, si ebbe solo dopo che, nel 1939, Ernst Chain, un biochimico tedesco riparato in Gran Bretagna per sfuggire al Nazismo, incontrò come supervisore Howard Florey ed insieme realizzarono un metodo per amplificare la quantità di penicillina prodotta dagli estratti di Fleming e, soprattutto, solo dopo che la tecnica di laboratorio Mary Hunt provvide a utilizzare piuttosto il *Penicillin chysogenum*, in grado di produrre principio attivo in ragione di 200 volte quello prodotto dal *Penicillium* di Fleming. Ed infine solo dopo che le mutazioni mediante irradiazione con i raggi X consentirono a Florey e al team americano di raggiungere una produzione 1000 volte più efficace della penicillina di Fleming. Si pensi che alla fine della Seconda guerra mondiale le truppe alleate portavano con loro ogni mese 650 miliardi di unità di penicillina, a fronte delle sole 400 unità prodotte tra il gennaio ed il maggio 1943<sup>27</sup>.

Certo, avrebbe fatto davvero comodo avere a disposizione uno strumento terapeutico efficace quando, nel periodo di tempo che intercorse tra la scoperta di Tiberio, in Italia, e la produzione industriale della Penicillina nel 1943-45, si persero milioni di vite, in seguito agevolmente salvate, a causa della guerra d'Africa, delle due Guerre Mondiali - di cui soprattutto la Prima fece milioni di morti principalmente a causa delle malattie infettive, "tra le varie malattie, le più diffuse furono il tifo e il colera, entrambe caratterizzate dalla dis-

senteria, con conseguente disidratazione dei pazienti; ma moltissimi combattenti si ammalarono anche di patologie respiratorie: da un semplice raffreddore si arrivava a patologie più gravi che interessavano, spesso, i polmoni, provocando la morte dei malati<sup>28</sup> - e delle varie epidemie che si susseguirono.

Infatti, con estrema lucidità, lo scienziato italiano aveva compreso la portata della propria scoperta come cura definitiva delle malattie infettive a genesi batterica:

*Risulta chiaro da queste osservazioni che nella sostanza cellulare delle muffe esaminate sono contenuti dei principi solubili in acqua forniti di azione battericida: sotto questo riguardo sono più attivi o in maggior copia quelli dell' Asp. flavescens, meno quelli del Mu. mucedo e del Penn. glaucum.*

*È noto che i substrati sui quali si sviluppano bene gli ifomiceti non si prestano gran fatto allo sviluppo degli schizomiceti: qualora però i primi vengano a contatto con sostanze ricche di batteri o capaci di favorirne lo sviluppo per sé stessi e coi loro prodotti, renderanno tali sustrati inadatti allo sviluppo dei secondi: per queste proprietà le muffe sarebbero di forte ostacolo alla vita e alla propagazione dei batteri patogeni<sup>29</sup>.*

In conclusione, si potrebbe anche concordare con l'osservazione enfatica di Covelli:

*la scoperta degli antibiotici e l'uso di tali sostanze in terapia rappresenta un contributo scientifico, sociale e pratico di tale rilevanza da caratterizzare in buona parte il progresso dell'umanità nel ventesimo secolo, periodo nel quale, peraltro, non sono state poche le scoperte scientifiche in tutti i campi, assolutamente degne di essere identificate come pietre miliari nel travagliato ma inarrestabile procedere della Storia. Tuttavia, per la diretta ricaduta sulla salute dell'Uomo, quella degli antibiotici più che una scoperta ha assunto le sembianze ed il significato di un vero e proprio evento miracoloso<sup>30</sup>.*

BIBLIOGRAFIA E NOTE

Bibliografia generale

- CHELLA G., *Non fu Fleming a scoprire la penicillina*. Vita e salute 1992; marzo: 33-34.
- COVELLI I., *L'igiene tra Storia e Mito: la figura e l'opera di Vincenzo Tiberio*. L'igiene moderna, La Commerciale 1988; LXXXIX(1): 233-242.
- COVELLI ZUPPA A., "Sugli estratti di alcune muffe ..." *Nel 1895 il molisano Vincenzo Tiberio anticipò la scoperta degli antibiotici*. Bollettino ordine dei Medici - Chirurghi e degli Odontoiatri della Campania, 1995, pp. 23-24.
- DE ROSA S., *Intuizione e scoperta: Vincenzo Tiberio, precursore della ricerca sulla penicillina*. Scuola e dintorni, Arzano (Na), 2006, pp. 1-19.
- FIorentino W., *Vincenzo Tiberio, precursore delle ricerche sulle muffe*. Scienza e tecnica 2003; 389: 28-40.
- GRASSO G. M., *Vincenzo Tiberio scopritore degli antibiotici*. Bollettino ordine dei Medici - Chirurghi e degli Odontoiatri della Provincia di Campobasso, 2007; 5: 22-23.
- MARTINES V., *Vincenzo Tiberio. Un italiano precursore degli studi sulla penicillina*. Roma, Stilgrafica s.r.l., 1995. MARTINES V., ZUPPA COVELLI A., *La vita e i diari di Vincenzo Tiberio*. Roma, Editrice Adel Grafica, 2006.
- PALUMBO P., *Scoprì la penicillina ma nessuno se ne accorse*. Scienza & Vita nuova 1985; 9:118-121.
- PALUMBO P., *Scoprì la penicillina 34 anni prima di Fleming*. Molise 1992; 6: 44-47.
- PIEDIMONTE A. E., *L'incredibile storia dello scienziato che anticipò Fleming di 30 anni: scoprì la penicillina ad Arzano*. Corriere del Mezzogiorno, 16 giugno 2015.
- STERPELLONE L., *I grandi della medicina. Le scoperte che hanno cambiato la qualità della vita*. Roma, Donzelli editore, 2004.
- STERPELLONE L., *Un italiano prima di Fleming*. Il giornale della Previdenza dei Medici e degli Odontoiatri 2006; 7: 14-15.
- STERPELLONE L., *Alexander Fleming: "that's funny!"*. Il giornale della Previdenza dei Medici e degli Odontoiatri 2007; 1: 44-45.
- STERPELLONE L., *Giuseppe Brotzu e la "muffa del porto"*. Il giornale della Previdenza dei Medici e degli Odontoiatri 2007; 4: 18-19.
- TAMBURELLO M., VILLONE G., *L'intervento di medici ed infermieri nella Grande Guerra. Pax in bello ... sempre dalla parte di chi soffre*, 2005, pp. 1-7.
- TESTA I., *Le grandi figure della Medicina Molisana*. Campobasso, Palladino



Editore, 2011.

TIBERIO V., *Sugli estratti di alcune muffe*. Annali d'igiene sperimentale 1895; V: 91-103.

TRAMONTANO D., VILLONE G., *About thyroid cells in culture*. J Endocrinol Invest. 1994; 17 (11): 875-90.

VENEZIANI B. M., DI MARINO C., SALVATORE P., VILLONE G., PERROTTI N., FRUNZIO R. and TRAMONTANO D., *Transfected insulin-like growth factor II modulates the mitogenic response of rat thyrocytes in culture*. Molecular and Cellular Endocrinology 1992; 86: 11-20.

1. Eugenio Fazio nacque a Carpinone (Isernia) il 31 marzo 1849. Operò come medico a Napoli negli ultimi decenni del XIX secolo, interessandosi di Igiene pubblica e privata, ma anche di climatologia, di idrobalneoterapia, di opoterapia. La sua produzione scientifica fu notevole per quantità e qualità ed apprezzata sia in Italia che all'estero dove fu invitato, più volte, a congressi internazionali. Morì il 23 gennaio 1902. (Vedi TESTA I., *Le grandi figure della Medicina Molisana*. Campobasso, Palladino Editore, 2011, pp. 125-153).
2. Gaetano Rummo nacque a Benevento il 6 luglio 1853. Per primo in Europa fu promotore dell'uso del fonografo per registrare la voce dei malati a scopo di ricerca. Come medico si concentrò soprattutto sullo studio delle cardiopatie (vedi la cardiopatia di Rummo); descrisse anche il geroderma genitodistrofico (morbo di Rummo e Ferrannini). A Napoli insegnò, tra l'altro, Clinica medica e diresse la Terza Clinica della Facoltà di Medicina che divenne, grazie a lui, un istituto d'avanguardia. Fu, infine, un pioniere del giornalismo medico in Italia. Morì l'11 maggio 1917. (vedi JALARDI A., *Giuseppe Moscati e la scuola medica sannita del Novecento*. Benevento, Edizioni Realtà Sannita, 2004).
3. Antonio Cardarelli nacque a Civitanova del Sannio (Isernia) il 29 marzo 1831. Laureatosi, a soli 22 anni, presso la Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università di Napoli, vinse un concorso all'Ospedale di Santa Maria degli Incurabili ed insegnò Patologia e Clinica medica all'Università. Veniva chiamato "occhio clinico" per la sua abilità nel diagnosticare le malattie solo guardando in viso i pazienti. Già eletto Deputato dal 1880, venne nominato Senatore del Regno nel 1896. Morì l'8 gennaio 1927. (Vedi TESTA I., *Le grandi figure della Medicina Molisana*. Campobasso, Palladino Editore, 2011, pp. 83-104).

4. Vincenzo Tiberio si era innamorato della cugina, di primo grado, Amalia Teresa Graniero, figlia degli zii che lo avevano ospitato, nella loro casa di Arzano, durante gli anni universitari. L'amore era ricambiato ma la Graniero aveva due sorelle affette da handicap e per paura di una possibile nascita di bambini malati, il Tiberio preferì allontanarsi anche se poi, nel 1905, i due si sposarono ed ebbero tre figlie sane.
5. TESTA I., *Le grandi figure della Medicina Molisana*. Campobasso, Palladino Editore, 2011, p. 201.
6. COVELLI ZUPPA A., "Sugli estratti di alcune muffe..." *Nel 1895 il molisano Vincenzo Tiberio anticipò la scoperta degli antibiotici*. Bollettino ordine dei medici 1995; 24.
7. MARTINES V., *Vincenzo Tiberio. Un italiano precursore degli studi sulla penicillina*. Roma, Stilgrafica s.r.l., 1995, p. 12.
8. STERPELLONE L., *Un italiano prima di Fleming*. Il giornale della Previdenza 2006; 7: 15.
9. CHELLA G., *Non fu Fleming a scoprire la penicillina*. Vita e salute 1992; 34.
10. TIBERIO V., *Sugli estratti di alcune muffe*. Annali d'igiene sperimentale 1895; V: 91-103.
11. FIORENTINO W., *Vincenzo Tiberio, precursore delle ricerche sulle muffe*. Scienza e tecnica, 2003; 389: 29.
12. GRASSO G. M., *Tiberio igienista*. Relazione nel Convegno: *Vincenzo Tiberio scopritore degli antibiotici*. Campobasso 2007. Bollettino ordine dei medici Campobasso 2007; 5: 23.
13. TIBERIO V., op. cit. nota 10, p. 91.
14. Tiberio mostra qui di essersi posto già all'epoca il problema dei terreni di coltura chimicamente definiti, che avrebbe coinvolto successivamente i biologici cellulari, specie quelli che si occuparono di cellule eucariotiche (cfr. VENEZIANI B. M., DI MARINO C., SALVATORE P., VILLONE G., PERROTTI N., FRUNZIO R. AND TRAMONTANO D., *Transfected insulin-like growth factor II modulates the mitogenic response of rat thyrocytes in culture*. Molecular and Cellular Endocrinology 1992; 86: 11-20 e TRAMONTANO D., VILLONE G., *About thyroid cells in culture*. J Endocrinol Invest. 1994; 17 (11): 875-90).
15. TIBERIO V., op. cit. nota 10, p. 92.
16. TIBERIO V., op. cit. nota 10, pp. 93-95.
17. TIBERIO V., op. cit. nota 10, p. 97.
18. TIBERIO V., op. cit. nota 10, p. 96.
19. TIBERIO V., op. cit. nota 10, p. 98.

Vincenzo Tiberio

20. TIBERIO V., op. cit. nota 10, p. 98.
21. TIBERIO V., op. cit. nota 10, p. 98.
22. TIBERIO V., op. cit. nota 10, p. 98.
23. STERPELLONE L., *I grandi della medicina. Le scoperte che hanno cambiato la qualità della vita*. Roma, Donzelli editore, 2004, p. 191.
24. COVELLI I., *L'igiene tra Storia e Mito: la figura e l'opera di Vincenzo Tiberio*. *L'igiene moderna* 1988; LXXXIX (1): 240-214.
25. PALUMBO P., *Scoprì la penicillina ma nessuno se ne accorse*. *Scienza & Vita nuova* 1985; 9:119-120.
26. PIEDIMONTE A. E., *L'incredibile storia dello scienziato che anticipò Fleming di 30 anni: scoprì la penicillina ad Arzano*. *Corriere del Mezzogiorno*, 2015.
27. LLOYD E., *Fleming, Florey, & Chain: The Discovery and Development of Penicillin*. Leigh A. Zaykoski (ed), 2009.
28. TAMBURELLO M., VILLONE G., *L'intervento di medici ed infermieri nella Grande Guerra*. *Pax in bello...sempre dalla parte di chi soffre*, 2005, p. 3.
29. TIBERIO V., op. cit. nota 10, p. 95.
30. COVELLI I., *Introduzione*. In: MARTINES V., ZUPPA COVELLI A., *La vita e i diari di Vincenzo Tiberio*. Roma, Editrice Adel Grafica, 2006, p. 27.

Correspondence should be addressed to:

Giovanni Villone, Department of Medicine and Health Sciences "Vincenzo Tiberio", University of Molise - C.da Tappino I-86100 Campobasso, Italy.

