BIBLIOTECA LANCISIANA
Misc. B

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
ANNO CCLXXVIII (1880-81)

868

NUOVI STUDI

SULLA

NATURA DELLA MALARIA.

MEMORIA

DEI DOTTORI

GIUSEPPE CUBONI ED ETTORE MARCHIAFAVA

R.a BIBLIOTECA MEDICA
ROMA

ROMA
COI TIPI DEL SALVIUCCI
1881

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
ANNO CCLXXVIII (1880-81)

NUOVI STUDI

SULLA

NATURA DELLA MALARIA.

MEMORIA

DEI DOTTORI

GIUSEPPE CUBONI ED ETTORE MARCHIAFAVA

ROMA
COI TIPI DEL SALVIUCCI
1881

SERIE 3.ª — *Memorie della Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.*
VOL. IX. — *Seduta del 2 gennaio* 1881.

La dottrina sulla natura parassitaria della malaria (1) ha ricevuto la prova più luminosa dai recenti studî di Klebs e Tommasi-Crudeli pubblicati dall'Accademia dei Lincei nell'anno decorso. Da questi studî veniva dimostrato, che nel suolo delle località malariche si trova un organismo del genere *Bacillus*, il quale introdotto nel corpo di animali di prove o insieme alle terre convenientemente preparate, o isolato dopo coltivazioni in varî liquidi di coltura, vale a produrre febbri, che hanno tutte le caratteristiche cliniche (intermittenza) ed anatomiche (tumore splenico, melanosi splenica e ghiandolare) delle febbri da malaria.

Dopo tali risultati, da' quali veniva rischiarato uno dei più importanti problemi eziologici, rimaneva a studiare la infezione malarica nell'uomo, molto più accuratamente di quello che non si fosse fatto finora, e seguendo lo stesso indirizzo. Nella Memoria dei professori è ricordato come uno di noi (Marchiafava) trovasse nel sangue, nella linfa, nella milza e nel midollo osseo dei cadaveri di tre uomini morti di febbre perniciosa, e sezionati freschissimi, microrganismi identici a quelli descritti dai medesimi, cioè spore e bacilli di varia lunghezza, e in altri due casi soltanto spore. Ma ciò non bastava a completare tali studî.

Nella estate testè decorsa seguendo i consigli del prof. Tommasi-Crudeli, nel laboratorio di Anatomia patologica, da lui diretto, si proseguirono in più larga scala gli studî sulla natura della malaria, tanto sulle terre malariche quanto nell'organismo dell'uomo ammalato. In questi studî ci furono compagni i sigg. dottori Ferraresi e Sciamanna. Noi ci proponemmo di studiare:

1° Se nelle terre malariche si ritrovasse costantemente il *Bacillus malariae*, se nelle medesime nella stagione estiva si svolgessero i varî stadî del suo sviluppo, dalla *spora* al *bacillo sporigeno*, e a qual grado giungesse la sua elevazione nell'atmosfera.

2° Se la infezione malarica fosse trasmissibile dall'uomo agli animali per mezzo del sangue.

3° Se nel sangue degli uomini febbricitanti per malaria si ritrovassero microrganismi, e se questi avessero o no relazione con quelli descritti.

(1) Una comunicazione preventiva di tali studî fu fatta da uno degli autori (Marchiafava) al Congresso medico di Genova nel settembre decorso.

§ 1. Per fare gli studî sulle terre malariche, uno di noi (Cuboni) si recò in Ostia nel mese di luglio, quando cioè infierivano le febbri da malaria, e si aveano notizie di parecchi lavoranti alla mietitura, colpiti in quelle tenute da gravi febbri perniciose. Il giorno 24 dello stesso mese, nella località detta *Ponticelli*, dalle 11 ant. fino alle 3, si raccolsero campioni di fango e di acque in differenti punti dello stagno di Ostia, sia dove lo stagno è scoperto, sia dove è coperto da una folta macchia di *Phragmites comunis* e *Scirpus palustris*. Il fango fu raccolto e conservato per le colture in cassette di latta identiche a quelle usate da Klebs e Tommasi-Crudeli nelle loro ricerche. Per raccogliere e conservare i saggi di acqua furono usati dei tubetti di vetro, capillari alle due estremità, riscaldati prima ad alta temperatura e poi saldati alla lampada, affine di escludere ogni germe di organismi. Rompendo l'estremità di uno di questi tubetti sotto l'acqua, questa sale fino a riempirne circa la metà, così si ha il vantaggio di avere nel tubetto una sufficiente quantità di aria che permette la vita e lo sviluppo di *schizomiceti aerobi*. Furono così raccolti più di cinquanta saggi di acqua, che si esaminarono man mano nei giorni successivi, ed alcuni furono conservati fino nel settembre. Parecchi saggi furono anche raccolti in tubicini capillari di vetro nastriformi, secondo un metodo suggerito dal prof. Pedicino, nei quali tubicini il liquido, che vi sale per capillarità, può essere esaminato direttamente al microscopio senza estrarlo. Il fango e le acque raccolte furono in parte sottoposti ad esame microscopico immediatamente in Ostia stessa coll' *Oggettivo* n. 10 (Hartnack). In questo esame come nei successivi non abbiamo tenuto conto che delle forme appartenenti al gruppo degli *schizomiceti*, persuasi come siamo, non solo per le ricerche di Klebs e Tommasi-Crudeli, ma anche per le molte ragioni esposte da Nägeli (1) che solamente fra gli *schizomiceti* vanno cercati gli organismi capaci a produrre malattie del genere delle malariche. Dall' osservazione microscopica fatta sotto questo punto di vista, si constatò che, sia nelle acque, sia nel fango, esistevano grande quantità di *Bacillus* isolati, o riuniti in filamenti più o meno lunghi, a protoplasma omogeneo, e perfettamente identici a quello figurati da Klebs e Tommasi-Crudeli nella tav. II, fig. 3 della loro Memoria. Così fu verificato l'ipotesi da loro emessa, che cioè nei mesi della estate si trovino nei terreni malarici quei bacilli, che essi, lavorando nell' inverno o in primavera ottennero, ponendo il fango in acquitrini, ai quali si procuravano artificialmente le condizioni di temperatura, e di umidità che si verificano nella estate. Per vedere se tali forme di Bacilli si trovassero per avventura anche nell'aria soprastante allo stagno, si esaminò il sudore che grondava copioso dalla fronte dell' osservatore e di un altro che lo accompagnava (il termometro segnava 33° all'ombra), e in tutti i preparati fatti (dieci) si constatò qualche Bacillo. Identiche osservazioni si ripetevano in altre località presso Roma (Valle d' inferno) nel mese di settembre. Un esame di confronto fu fatto pure dallo stesso (Cuboni) in luoghi non malarici (Intra sul Lago maggiore). Nelle preparazioni fatte coll' identico metodo tenuto non si constatò alcun Bacillo.

Le culture fatte in orina bollita, con terre di località malariche, furono sempre positive, perchè dopo due o tre giorni sulla superficie del liquido si presentò una

(1) *Die niederen Pilze und ihren Beziehungen zu den Infection Krankeiten.* München. 1877.

membranella formata da una miriade di filamenti bacillari. Culture identiche fatte con fango raccolto in località non malariche (Intra) riuscirono negative, perchè l'orina si mantenne acida, e limpida. È a notare come tali culture furono eseguite colle stesse norme suggerite da Klebs e Tommasi-Crudeli.

§ 2. Dalle esperienze di Klebs e Tommasi-Crudeli risulta la capacità negli animali (conigli) a prendere l'infezione malarica. Difatti introducendo nel loro organismo o le terre malariche, o la pianta microscopica coltivata in vario modo ed isolata dai liquidi di coltura, si suscitano febbri, che hanno le note caratteristiche delle febbri da malaria. Ora era importante la ricerca, se tale infezione si potesse destare negli animali, introducendo nel loro organismo il sangue di uomini febbricitanti per infezione da malaria, e questo sperimento dovea riuscire, dato che nel sangue si trovassero i microrganismi produttori della infezione. Nè ci sconfortava da queste esperienze il fatto riconosciuto da tutti della non contagiosità della febbre da malaria da uomo ad uomo, essendo già provato per altri morbi infettivi non contagiosi, nel senso comune della parola, la possibilità di trasmetterli dall'animale ammalato al sano per mezzo del sangue (1).

Le esperienze furono eseguite principalmente sui cani. Gli animali erano tenuti in una camera spaziosa, bene aereata, nutriti convenientemente; essi erano pesati, e la loro temperatura rettale veniva misurata varie volte nelle 24 ore, per alcuni giorni avanti l'esperimento.

La introduzione del sangue dei malati febbricitanti nell'organismo degli animali fu fatta nei seguenti modi: *a*) injezione sottocutanea di sangue defibrinato; *b*) trasfusione di sangue defibrinato nella cavità del peritoneo; *c*) injezione di sangue nella trachea. Il numero dei cani assoggettati all'esperimento ascese a sei. In tre cani, ai quali il sangue fu introdotto sotto la pelle, il risultato fu negativo o dubbio, negli altri tre si ebbero risultati di un qualche valore, e a questi la introduzione del sangue fu fatta in uno nella cavità del peritoneo, negli altri due nella trachea. In questi cani si ebbero accessi febbrili che cessarono presto, non oltrepassando il numero di quattro. Ecco in breve il riassunto delle tre esperienze.

1° Ad un cane del peso di chilogrammi 9 s'injettano nella trachea, per mezzo della siringa di Pravez, poche goccie di sangue aspirato dalla milza di un febbricitante nell'acme dell'accesso, nel mezzodì del giorno 10 agosto. L'andamento della temperatura si rileva dalla fig. 1 tav. I, donde risulta, che nei due giorni seguenti alla injezione si ebbero due innalzamenti marcati della temperatura, ai quali seguì negli altri due giorni un distinto abbassamento. Il cane durante i due primi accessi si mostrò abbattuto, e le pulsazioni ascesero a 120-130. L'animale fu ucciso quattro giorni dopo l'ultimo accesso febbrile, ma non si potè constatare tumore splenico; nè tale risultato ci maravigliò, considerando che non si ebbero che due soli accessi, e che troppo tempo era decorso dall'ultimo all'epoca della morte.

2.° Ad un cane del peso di chilogrammi 11 furono injettati nella cavità del peritoneo cinque grammi di sangue defibrinato, estratto per salasso da una vena del

(1) Tizzoni. *Studi sulla natura del tifo addominale.* Annali universali di medicina vol. 251. Anno 1880.

braccio di un febbricitante. L'operazione fu eseguita in modo che col sangue non entrassero nel peritoneo materiali infettivi. Il cane si mantenne tranquillo e vispo durante la giornata, si nutrì come il solito, e non manifestò alcun segno di sofferenza. In questo cane la temperatura oscillò per qualche giorno avanti l'operazione fra 38° e 39°, 1. La curva (fig. 2, tav. I) della temperatura mostrò quattro non gravi innalzamenti della stessa, tre nei tre giorni successivi all'operazione sempre nelle ore antimeridiane, e un quarto nel quinto giorno preceduto e seguito da un marcato abbassamento della temperatura. Il cane si lasciò vivere, nè si manifestarono altri accessi.

3.° Ad un cane del peso di chilogrammi 13 s'injettarono nella trachea come al cane n. 1 poche goccie di sangue di un febbricitante. In questo cane la temperatura misurata per 12 giorni di seguito non aveva superato il 39°, 1. La fig. 3, tav. I, mostra due marcati innalzamenti della temperatura nei due giorni successivi all'operazione, nelle ore antimeridiane, e due leggieri nel terzo giorno, seguiti da un abbassamento della medesima per più giorni di seguito. In questo cane si manifestò pure assai evidente l'abbattimento, l'affanno, e la frequenza del polso (120-130) durante gli accessi.

Se le injezioni sottocutanee furono inefficaci in tre cani, non lo furono in un coniglio del peso di grammi 1665, al quale furono injettate sotto la pelle del ventre due sciringhe di diluzione di polpa splenica di un uomo morto di perniciosa comatosa. Dalla curva della temperatura (fig. 4, tav. I) risultano innalzamenti di temperatura accessionali corrispondenti da principio al tipo terzanario semplice. Ucciso l'animale nel settimo giorno della injezione si trovò notevole tumore splenico (fig. 5, tav. II) il quale si rilevò coi stessi criteri dei quali si giovarono Klebs e Tommasi-Crudeli nella misura delle milze dei conigli da loro infettati.

Da questi sperimenti ci sembra di poter ritenere probabile che la infezione malarica sia trasmissibile dall'animale malato al sano per mezzo del sangue. Diciamo probabile e non certo, perchè, oltre le altre obbiezioni che possono facilmente muoversi, la dimostrazione non è così solenne come quella che si può ottenere per certi morbi infettivi, i quali oltre la forma clinica, che negli animali *ha sempre un valore molto relativo,* offrono lesioni così caratteristiche da non poterle confondere con altre, come le alterazioni anatomiche della febbre tifoidea, della pustola maligna, della morva, della eresipela ecc. Inoltre è da considerare che la temperatura nei pochi cani sperimentati, non si levò a quell'altezza a cui suol levarsi nell'uomo febbricitante per malaria, nè si potè verificare il rigonfiamento della milza, o la melanemia per il breve numero e per la poca gravezza degli accessi, effetto anche della poca quantità di sangue contenente il materiale infettivo, introdotta nel corpo degli animali. Però il fatto fondamentale della trasmissibilità della infezione malarica, più che dai notati sperimenti, che devono essere ripetuti in più largo numero, con maggiori cautele, ed esaminando il sangue degli animali, ci sembra dimostrata dalle sperienze di Dochmann (1) di Pietroburgo, il quale colla iniezione sottocutanea del contenuto di vescicole erpetiche prodottosi in

(1) *Zur Lehre von der Febris intermittens* vorl. Mitt. Centralblatt fur die medicinischen Wissenschaften n. 33. 1880.

un infermo di febbri di malaria, fatta in cinque uomini, ottenne in tre una vera febbre intermittente, in uno un semplice malessere, in uno nessuna manifestazione morbosa (1).

§ 3. L'esame del sangue degli uomini febbricitanti per la infezione da malaria fu fatto coll'accuratezza necessaria per simili ricerche. Il sangue fu tolto: *a*) per semplice incisione della pelle; *b*) dalle vene; *c*) dai seni venosi della milza.

a) Avanti di fare la piccola incisione della pelle, questa veniva accuratamente lavata con alcool fenicato; il sangue che usciva dalla ferita veniva raccolto in tubetti di vetro fusiformi chiusi alle due estremità, una delle quali aperta per farvi penetrare il sangue, si chiudeva subito alla lampada. I tubetti entro cui era raccolto il sangue, venivano posti in posizione verticale, e quando dal coagulo cruoroso si era separato il siero, questo veniva esaminato al microscopio, usando vetri nettissimi, e vario ingrandimento (Hartnack Ob. VIII. Oc. IV. Ob. X. Oc. III tubo alzato).

b) Il sangue veniva estratto dalla vena facendo piccoli salassi, e raccogliendo il sangue in vasi di porcellana nettissimi, e poi nei tubetti descritti.

c) Il sangue si estraeva direttamente dai seni venosi della milza con un metodo proposto, ed eseguito dal dott. Sciamanna. Le condizioni necessarie per praticare la suddetta operazione sono: 1° che la milza sporga dall'arco costale, fatto frequentissimo negli abitatori della campagna romana; 2° che la milza non sia nè troppo molle nè con capsula sclerotica: non troppo molle perchè l'organo non difetti della tonicità necessaria a far cessare lo stillicidio del sangue, immediatamente dopo l'operazione; non a capsula sclerotica, perchè la resistenza offerta all'ago non sia soverchia, e ostacoli la facile introduzione del medesimo. L'istromento che si adopera è la comune sciringa di Pravaz; essa deve essere accuratamente disinfettata con lavande fatte con alcool fenicato, e conservata in una scatola in mezzo al cotone fenicato. Il processo operatorio è semplicissimo, poichè l'ago estratto dal cotone fenicato viene infisso sotto l'arcata costale verso il centro della milza fino al cappelletto, e si aspira lentamente, quindi estratto l'ago si avvolge di nuovo nel cotone fenicato,

(1) Avevamo già terminato la presente Memoria, quando leggemmo nella Gazzetta medica di Roma. (dicembre 1881) che il dott. Ottavio Leoni ha ripetuto le sperienze di Dochmann injettando sotto la pelle di due giovani contadini il liquido contenuto nelle vescicole erpetiche sorte in gran numero sul mento e sulle labbra di un malato di febbri intermittenti. In uno si manifestarono, nel posto della injezione, vescicole consimili a quelle osservate nell'infermo, la eruzione delle quali fu accompagnata da malessere generale, senza lo sviluppo di un vero accesso febbrile. Nell'altro alla fine del secondo giorno, si manifestò arrossamento nel punto corrispondente alla injezione, e quindi un accesso febbrile preceduto da brividi, terminato con sudore e che durò dieci ore. Nel giorno seguente, pressochè alla istessa ora, si ripetè l'accesso e con maggiore intensità; allora fu somministrata la chinina e non vennero più accessi. Lo stesso liquido fu inoculato, allo stesso modo col quale s'inocula il pus vaccino, nel braccio di due fanciulli, i quali, dal secondo al terzo giorno dalla inoculazione, manifestarono quello stato di malessere che suol precedere un parossismo febbrile. L'autore, che si dichiara favorevole alla dottrina parassitaria della infezione malarica, sulla quale ha pubblicato altri studî clinici, è inclinato a credere, che nei casi in cui si ebbe un risultato negativo, sebbene non in senso assoluto, si sia avuto pure o un limitato assorbimento del materiale infettivo, o una rapida espulsione dall'organismo mercè i naturali processi eliminativi. Egli inoltre trova che i risultati della patologia sperimentale sono d'accordo con quelli della clinica, dalla quale è noto che individui, che capitano in luoghi malarici, provano talora un malessere generale, come quello che precede l'accesso febbrile, senza che questo si manifesti.

e quindi si procede o all'esame microscopico del sangne, o alla injezione intratracheale nei cani.

L'estrazione del sangue fu per lungo tempo praticata coi metodi descritti nei febbricitanti, nell'acme e sul declinare dell'accesso, perchè si credeva che in quei stadî della febbre l'esame del sangue fosse più importante, e perchè non è molto frequente trovare nell'ospedale febbricitanti nel periodo del freddo. L'esame microscopico del sangue dimostrò costantemente la presenza di microrganismi di forma rotondeggiante, refrangenti fortemente la luce, vivamente oscillanti. Essi si distinguono dalle così dette granulazioni elementari per la loro uniformità, per la resistenza agli acidi e agli alcali, e per la loro figura, e per le ragioni che saranno dette appresso si debbono ravvicinare alle spore semoventi che si trovano nei terreni malarici, e dalle quali si sviluppano i bacilli. Il numero di queste spore è vario, talora sono assai numerose e sono incluse entro i globuli bianchi in guisa da riempirli completamente. In ciò consisteva principalmente il reperto del sangue fatto nell'acme della febbre e nella defervescenza, ma non tanto raramente si trovarono pure piccole forme bacillari, contenenti o no sporule.

Ora, prescindendo da questo ultimo fatto, sul quale ritorneremo appresso, è chiaro come limitandosi a questo il reperto nel sangue, non veniva infirmata la dottrina parassitaria della malaria, relativamente al parassita patogeno descritto da Klebs e Tommasi-Crudeli. E le ragioni di una tale asserzione sono principalmente le seguenti: 1° Il parassita patogeno descritto dai nominati autori è sporigeno, e nulla ostava a credere che la forma bacillare si fosse disfatta lasciando libere le spore, fornite esse stesse del potere morbigeno della pianta sviluppata; 2° perchè negli animali infettati da Klebs e Tommasi-Crudeli con liquidi malarici, e che ebbero manifestato le note cliniche ed anatomiche della infezione malarica, si trovarono talora le forme bacillari nella milza, nel midollo osseo, nelle ghiandole linfatiche, mentre nel sangue non esistevano altro che sporule, o queste soltanto si trovarono nel sangue e negli organi; 3° perchè da colture fatte in colla di pesce in una camera ad aria microscopica, del sangue di un febbricitante contenente unicamente spore, si ebbe nel giorno successivo lo sviluppo abbondante di bacilli, nello stesso modo che Klebs e Tommasi-Crudeli e poi Ceci li ottennero dalla coltura delle spore contenute nel sangue dei conigli infettati; 4° perchè infine, anche in altre malattie prodotte da organismi appartenenti al genere *Bacillus*, nel sangue si ritrovano non raramente soltanto le sporule dei medesimi. Così nella infezione carbonchiosa, determinata certamente da un parassita bacillare (*Bacillus anthracis*), come hanno dimostrato i studî fatti da Davaine in poi, specialmente quelli di Koch (1), nel sangue talora non si trovano che le spore, mentre il *Bacillus* o non vi si trova affatto, o si trova in alcuni distretti vascolari, come nel caso di Buhl che lo trovò soltanto nel sangue della vena porta e de' suoi confluenti. E ad uno di noi (Marchiafava) è occorso di osservare in questi ultimi tempi due casi importanti per tale riguardo sebbene non nuovi. Il primo era un caso di pustola maligna della guancia, terminato colla guarigione, nel quale, mentre nella pustola esisteva un numero infinito

(1) F. Cohn's, *Beitr. z. Biologie de Pflanzen* B. 1° Heft 3°.

di bacilli invadenti tutti i spazi linfatici del connettivo, nel sangue non si trovarono che spore. Nel secondo caso si trattava di edema carbonchioso della palpebre, occorso in un individuo che si era cibato di carni di pecora morta; in questo caso durante la vita si trovarono soltanto spore nel sangue e nel liquido delle vescicole carbonchiose, e dopo la morte, mentre si trovavano soltanto spore nel sangue, si trovarono rare forme bacillari nel liquido dell'enorme edema carbonchioso. I tagli fatti in alcuni organi indurati nell'alcool (intestino, pelle, ghiandole linfatiche, diaframmae tc.) dimostrarono ovunque capillari ripieni di spore brillanti, in mezzo alle quali si poteva vedere soltanto qualche raro bacillo.

Da tutte queste ragioni ci sembra adunque provato che non poteva negarsi, essere la infezione malarica generata da un parassita a forma bacillare, soltanto perchè nel sangue non si ritrovavano che spore.

Dopo avere per qualche tempo osservato il sangue dei febbricitanti nello stadio dell'acme e della remissione, si pensò ad osservare il sangue nel periodo del freddo, sembrandoci probabile che in quel periodo si trovassero i bacilli, i quali poi maturando rapidamente e disfacendosi lasciassero libere le sporule; e tale idea veniva confortata da quello che accade nella febbre ricorrente, dove lo *Spirochaete Obermeieri* Cohn, si trova nel sangue in maggior numero nei primi tempi dell'accesso, e poi gradatamente scompare senza che se ne trovino più traccie negli intervalli fra un accesso e l'altro. Ora nel sangue estratto nello stadio d'invasione dell'accesso, si sono costantemente trovate forme di *schizomiceti* come nella fig. 8, tav. II, dotate di vivacissimi movimenti di oscillazione e di traslazione. Essi sono forme di bacilli corti muniti per lo più alle due estremità di una spora. La forma più frequentemente incontrata è quella segnata colla lettera *a* in cui il bacillo è piegato a guisa di C. La loro lunghezza è variabile fra 1-3 diametri dei globuli rossi: talora oltre le due sporuline terminali ve n'è una mediana (*b*), qualche volta tutto il bacillo è sporulifero e rassomiglia ad una catenella di spore (*c*). Più rare sono le forme in cui esiste una spora ad una sola delle estremità (*d*). Quando la temperatura si fa più elevata nel febbricitante, il numero di queste forme bacillari è minore, e pare invece che cresca il numero delle spore. Il numero di tali forme è variabile, talora (quattro casi) se ne ritrovarono in numero notevole (8-10 sotto il campo microscopico). Qui è però a notare come tali forme bacillari si trovarono ancora nel sangue degli infetti da malaria negli intervalli apirettici, ed in malati dell'ospedale apirettici e non sofferenti di febbri intermittenti; ma finora giammai in quella quantità che fu notata nei febbricitanti nell'esordio dell'accesso febbrile, o qualche ora avanti l'accesso. L'aver trovato nel sangue d'individui sani o malati di altre malattie qualche esemplare delle forme descritte, non deve sorprendere, se si considéra che tutti coloro, che vivono in un paese malarico debbono certamente introdurne, specialmente per la via del respiro, nel loro organismo. E si può credere ragionevolmente che sfuggano alla infezione quelli, che hanno la circolazione di tutti quanti gli organi, sopratutto dei reni, in buono stato, non potendosi, in tal guisa, dar luogo alla possibilità di estese nidificazioni. Inoltre è da notare che in paesi malarici, si trovano non raramente individui, che pur non soffrendo di febbri intermittenti, hanno tumore splenico, accompagnato o no da altri disturbi.

Evidentemente le dette forme riscontrate nel sangue rappresentano uno stadio sporigeno di un bacillo (1). Saranno esse identiche specificamente alle forme studiate da Klebs e Tommasi-Crudeli, e da essi distinte col nome di *Bacillus malariae*? forme trovate anche da noi sviluppate spontaneamente nei terreni malarici durante la stagione estiva? Chi si limitasse a confrontare la nostra figura n. 8, tav. II, che rappresenta le forme comunemente rinvenute, con quella già citata della tav. II, n. 3 della Memoria di Klebs e Tommasi-Crudeli, figura nella quale più esattamente si riscontrano i caratteri che il Cohn assegna nella sua monografia (2) al genere *Bacillus*, dovrebbe rispondere, che nel caso nostro, non solo si tratta di una specie, ma bensì

(1) Accenniamo per la loro singolarità, alle ricerche di Arndt (Virchow's Archiv. B. 83. Hef. 1. *Untersuchungen an den rothen Blutkörperchen der Wirbelthiere*) il quale studiando gli effetti delle contrattilità de' globuli rossi, è venuto nella opinione che una parte di quelle forme che si trovano nel sangue e si designano come micrococchi e batteri non sieno che frammenti globulari, e filamentosi distaccatisi dai globuli rossi e bianchi. Egli ritiene assai verosimile che le *Spirochaete Obermeieri* che si trovano nel sangue, durante l'accesso della febbre ricorrente, non sieno che filamenti a spirale, originati dal protoplasma dei globuli rossi, dai quali poi si distaccano.

Arndt trova una conferma alle sue vedute nelle ricerche di Ehrlich (*Methodolog. Beiträge z. Physiologie d. verschiedenen Formen d. Leukocyten* Zeitschr. f. klin. Medicin. B. I. Hft. 3) e di Gaule (*Ueber Wurmchen velche aus den Froschblutkörperchen auswandern.* Archiv. f. Anat. u. Physiol. 1880. Heft 1. n. 2). Ehrlich osservò nel sangue dei febbricitanti distaccarsi dai globuli bianchi dei filamenti che si mostravano simili ai frammenti di Spirilli, e Gaule vide dai corpuscoli rossi del sangue defibrinato della rana originare corpi vermiformi (wurmchenähnliche) i quali fattisi liberi dai medesimi a furia di movimenti, seguitano a muoversi con rapidità vertiginosa, si attaccano e si distaccano più volte ai corpuscoli rossi che incontrano, li trascinano con loro e alla fine si dissolvono e spariscono Arndt non potè riscontrare i fatti osservati da Gaule nel sangue della rana, ma soltanto in quelle del *Bufo variabilis*, e Gaule stesso riscontrò il fatto in una metà degli animali da lui adoperati.

La contrattilità e lo *spezzamento* dei globuli rossi e bianchi sono fatti che non possono essere messi in dubbio. Non è infrequente di vedere nel sangue dei febbricitanti e di altri malati (anemia perniciosa, leucoemia ecc.) i globuli rossi che presentano forme varie e talora bizzarre, o frammenti dei medesimi foggiati a granuli isolati o riuniti fino a formare delle coroncine a biscotti, a fiaschi ecc. Nello stesso sangue dei febbricitanti per malaria, specialmente nei globuli rossi rimasti nel siero raccoltosi al disopra del coagulo, noi osservammo sorgere dal protoplasma dei medesimi, prolungamenti a forma irregolare, aventi il colore dello stesso protoplasma, fino a vederli distaccati completamente per rimanere pressochè immobili accanto ai globuli rossi. E ciò vedemmo senza reagenti, osservando i globuli rossi nel siero sanguigno (nei mesi di agosto, settembre, ottobre), nel quale il fenomeno si rende più rapido e più manifesto. Però dobbiamo confessare che le forme bacillari che noi riteniamo per microrganismi, si distinguono da quei frammenti di globuli rossi per il movimento vivacissimo, per la nettezza dei contorni, per l'aspetto del loro protoplasma scolorato, per l'omogeneità della forma, per la loro indipendenza dai globuli rossi, e per gli altri caratteri già ricordati. Quanto poi allo spirillo della febbre ricorrente, la sua natura parassitaria fu riconosciuta non solo dai più eminenti patologi, ma ancora dai micologi più competenti (Cohn...), e recentemente il dott. Carter ha dimostrato la trasmissibilità della febbre ricorrente nelle scimmie, nel sangue delle quali si trovano numerosissimi i spirilli, come noi stessi abbiamo potuto vedere nei preparati mostratici dallo stesso autore. Del resto le ricerche di Arndt e degli altri, prescindendo dal loro valore biologico, se possano gettare qualche dubbio sopra alcune forme ritenute parassitarie, che si trovano nel sangue e spingere a studi ulteriori, non valgono a farlo per altre (*M. diptherícus*, *M. septicus*, *B. Anthracis* . . . . .) le quali e per i caratteri nettissimi e per i risultati delle culture, si dimostrano nettamente per microganismi indipendenti dagli organismi elementari del sangue e dei tessuti.

(2) *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* II p. 203.

di un genere diverso. Se non che nella figura citata il *Bacillus* è nello stadio di riproduzione per semplice divisione, i singoli segmenti non contengono sporule e il suo protoplasma è perfettamente omogeneo. Se confrontiamo invece il *Bacillus malariae* (Klebs e Tommasi-Crudeli) quale è stato osservato nelle colture in gelatina del fango di Caprolace e figurato nella tav. II, fig. 7 ognuno vede la rassomiglianza colle forme riscontrate da noi. Inoltre la diagnosi dei detti professori (1) per stabilire la specie, corrisponde alle forme da noi osservate. Quindi si può ritenere che rappresentino lo stadio sporigeno del *Bacillus malariae* (Klebs e Tommasi-Crudeli). Del resto lo studio di questo bacillo come quello di quasi tutti i schizomiceti è finora troppo incompleto ed incerto dal punto di vista della sistematica rigorosa, e certamente molti altri studî sono da farsi sul *Bacillus* delle terre malariche, per seguirlo nei suoi diversi stadî di sviluppo e sopratutto esaminare le modificazioni che subisce una volta entrato nel circolo sanguigno di un animale, a fine di togliere ogni dubbio sulla perfetta identità specifica fra questo e le forme osservate nel sangue dell'uomo febbricitante per malaria, e perchè possa avere l'importanza diagnostica del *Bacillus anthracis*.

L'esame microscopico del sangue estratto dalla milza ci fece osservare nella maggior parte dei casi numerose sporule e qualche rara forma bacillare. Però è a notarsi che durante l'epoca dei nostri studî, non ci occorse mai alcun caso, da poter esaminare il sangue della milza durante l'invasione febbrile, dal quale esame noi attendevamo importanti risultati. Soltanto in un caso, nel sangue splenico, abbiamo riscontrato forme bacillari distintissime, bene sviluppate, di varia lunghezza come quelle descritte da Klebs e Tommasi-Crudeli, e a quelle trovate in qualche caso nel cadavere d'individui morti di febbre perniciosa, e a quelle ottenute dalle spore mediante le colture del sangue (fig. 6, tav. II). Si trovarono inoltre nel sangue forme bacillari corte isolate o riunite, con spore o senza (fig. 7, tav. II), ma giammai con quella costanza e quantità delle forme disegnate nella fig. 8. Tali forme disegnate nella fig. 7 è probabile che rappresentino uno stadio meno avanzato di sviluppo di quelle della fig. 8, le quali in tal caso rappresenterebbero lo stadio ultimo di disfacimento dei bacilli e di liberazione delle spore.

§ 4. Le osservazioni fatte sui cadaveri degli uomini morti per l'infezione da malaria acuta o cronica, presentarono alcuni fatti non privi d'interesse. Ma noi riserbandoci di pubblicare altrove quelli che solamente riguardano l'anatomia patologica e la clinica della infezione malarica riporteremo in breve quelli che possono valere a farne argomentare la natura parassitaria.

Fu ricordato già da principio che Klebs e Tommasi-Crudeli hanno riferito come uno di noi sezionando i cadaveri di uomini morti per febbre perniciosa trovasse nel sangue, nella linfa, nella milza, nel midollo osseo ecc. microrganismi identici a quelli trovati da loro nei terreni malarici. Noi abbiamo da aggiungere che in altri casi di perniciosa occorsi in appresso non si trovarono che microrganismi rotondeggianti spore nel sangue, nella linfa e negli altri visceri sopratutto nella milza e nel midollo osseo. È noto a tutti come nella infezione malarica, specialmente nelle febbri

(1) Memoria citata pag. 30.

perniciose, queste viscere inturgidisca e si faccia mollissimo, così da lacerarsi come si tenti di asportarlo dal cadavere; ora in tali casi esaminando a fresco la polpa splenica si trovano spesso numerose spore libere o racchiuse entro gli elementi cellulari linfatici più raramente entro le cellule epiteliali che rivestono i seni venosi. Ed è pure in tale organo ricchissimo di sangue che si trovano accumulati i microrganismi in altre malattie d'infezione parassitaria come nella pustola maligna, nella febbre tifoidea, nella setticoemia ecc. Nel midollo osseo oltre numerose cellule globulifere, e cariche di pigmento (delle quali è ricchissima ancora la milza) si vedono i microrganismi descritti o liberi o inchiusi negli elementi cellulari.

Le facili emorragie sono un fatto ovvio nella infezione da malaria, e ciascuno può facilmente persuadersene al letto del malato e sul cadavere. I due casi però che ora riferiremo, malgrado rientrino in questa categoria di fatti, pure nelle loro particolarità c'interessano per il nostro studio.

Caso 1.° Il 28 agosto mattina è portato nell'ospedale di s. Spirito un giovinetto campagnuolo in un accesso di perniciosa comatosa. Si apprestarono tutti i rimedî opportuni e si fecero injezioni ipodermiche di chinina. Dopo il mezzogiorno dietro profuso sudore la febbre cadde, ma rimase il coma profondo, dal quale il malato non si ridestò più, e la morte avvenne nella sera. All'autossia fatta la mattina si trovò: Melanemia, Melanosi della milza, del midollo osseo, del fegato, tumore splenico mollissimo. Il cervello presentava le meningi con viva injezione, con numerose emorragie puntiformi, la sostanza bianca si mostrava completamente gremita di emorragie puntiformi, numerosissime, talune confluenti, mentre la sostanza grigia periferica e gangliare ne mostravano in numero assai limitato (fig. 9, tav. II); tali emorragie miliariche proseguivano nel ponte del Varolio e digradavano nella midolla oblongata e nella spinale. L'esame microscopico dimostrò come ciascuna emorragia presentasse nel centro un vasellino sanguigno contenente globuli bianchi includenti piccole zolle di pigmento, e accumuli di granuli uniformi, resistenti all'azione dell'acido acetico, ma non colorantisi coi colori di anilina. Nella fig. 10, tav. II sono rappresentate due emorragie di varia grandezza, e i vasellini, dai quali esse sono procedute ripieni del contenuto del quale si è fatta menzione.

Caso 2.° Un giovane robusto morì il giorno 15 decembre nell'ospedale di s. Spirito colla diagnosi di perniciosa comatosa. All'autossia si trovò: Melanemia, tumore splenico mollissimo, edema polmonare. Nel cervello si ebbe l'identico reperto del caso precedente.

Ora lasciando da parte l'interesse clinico ed anatomo-patologico di tali casi di *perniciosa comatosa emorragica* (per distinguerla dalla semplicemente *congestiva*) importa notare che quelle innumerevoli emorragie cerebrali, le quali per loro sole, determinando una così estesa e profonda lesione del sistema nervoso, produssero la morte dei due malati, non possono spiegarsi per le note lesioni di nutrizione dei vasellini sanguigni, esse sono dovute verosimilmente a lesioni di nutrizione delle sottili pareti delle arteriale e dei capillari cerebrali cagionate dalla presenza dei microrganismi produttori della infezione malarica. La qual genesi micotica è stata completamente dimostrata per le emorragie che occorrono nel cervello, nei reni, nella pelle ecc. in altre malattie d'infezione, in ciascuna delle quali nel centro o

in prossimità, si trovano embolismi micotici (Endocardite ulcerosa, Eresipela, Difterite ecc.).

Un' altra osservazione ci sembra pure meritevole di essere ricordata. Il giorno 27 ottobre morì nell' ospedale di s. Spirito un uomo di media età, colla diagnosi di *perniciosa cardialgica*. All'autossia si trovò: Tumore splenico mollissimo leggermente melanotico, congestione ed edema polmonare, emorragie stomacali. Il fegato presentava numerosi nodi periferici di color biancastro, di forma conica, coll' apice volto verso l'interno dell'organo. L'esame microscopico di sezioni complete dei nodi più piccoli, dimostrò i capillari dei singoli lobuli compresi nei medesimi, ripieni di globuli bianchi, i quali ne distendevano le pareti, comprimendo le serie di cellule epatiche circostanti; inoltre nelle piccole diramazioni portali circostanti, oltre numerosi globuli bianchi e pochi rossi, si osservavano accumoli di granulazioni aventi i stessi caratteri di quelle trovate nelle emorragie cerebrali.

Ora se tali accumuli sono costituiti da microrganismi si comprende bene come nel distretto corrispondente alla vena trombizzata da essi e dalle cellule bianche avesse luogo quella stasi linfatica, da rilevarsi ad occhio nudo con quei nodi conici descritti.

APPENDICE

Siamo lieti di pubblicare in appendice a questo resoconto dei nostri studi, una lettera che il distinto micologo romano sig. dott. Matteo Lanzi, ha diretto al prof. Tommasi-Crudeli, dopo l'annunzio dei risultati ai quali noi eravamo giunti.

Egregio professore,

I lavori suoi e del prof. Klebs recentemente pubblicati, ed i risultati degli studî fatti sulla natura della malaria, e comunicati al congresso medico di Genova, non potevano fare a meno di non destare un vivo interesse in me e nel dott. Terrigi che pure insieme ci occupammo già di tali ricerche. Da ciò ne venne, che io, avendo agio di fare osservazioni sul sangue dei febbricitanti nel mio quartiere dell'ospedale di s. Giovanni, mi accinsi a ripetere siffatte indagini, non tralasciando di farne partecipe il mio amico dott. Terrigi.

Il metodo di osservazione da me tenuto, fu quello medesimo da Lei adottato, cioè di raccogliere il sangue dal braccio delle inferme nello stadio di freddo, che accompagna l' invasione di un accesso febbrile. E qui debbo annotare che i risultati delle precedenti nostre indagini e le relative conclusioni, quali appariscono dai nostri scritti, non sono concordi con quello che ora sono per dire, appunto perchè non mai effettuate in tale stadio della malattia.

Non sono in grado al presente di citare gran numero di fatti, però nel sangue di dodici inferme, non una sola volta, sia nell'esame immediato del sangue appena estratto, sia in quello ripetuto poche ore dopo, mancò di farsi vedere il microfito cui Ella e Klebs riferiscono il miasma febrigeno. Anzi credo dover notare che in una donna, dalla quale presi il sangue nel momento, in cui soffriva un freddo intensissimo, accompagnato da macchie cianotiche negli arti superiori, si trovarono quei

microfiti in numero maggiore che negli altri casi, mentre in una, in cui il freddo stava per cessare, se ne trovarono in quantità relativamente minore. Non oso da questi pochi fatti trarre deduzioni, le quali hanno bisogno di ulteriori osservazioni; credo tuttavia che debba tenersene conto da chi si accinga a tale studio.

Inoltre ho praticato colture del sangue estratto, servendomi di un metodo semplicissimo, onde evitare, per quanto mi fosse possibile, un maggiore contatto coll'aria esterna. Questo metodo consiste nell'aggiungere ai tubetti di vetro, contenenti il sangue, poca acqua distillata, servendomi così del sangue stesso come materiale nutritivo. Il tubetto lasciato aperto è chiuso in una piccola camera d'isolamento.

Ora per essere breve dirò sommariamente che nel sangue estratto ho trovato in prevalenza le forme più brevi rappresentate da Lei e da Klebs nella loro Memoria, raramente e non in tutti i malati le forme più allungate del bacillo quali sono pure quelle della fig. 8. Nelle colture invece oltre alle suddette forme corte, immensamente moltiplicate di numero nel lasso di un giorno, viddi anche più frequenti quelle disposte a catenella e le bacillari corrispondenti alle fig. 2, 3, 4 della stessa tavola.

Ora resterebbero a farsi ricerche di controprova, nelle quali debbono usarsi cautele anche maggiori, in individui affetti da altre malattie e in individui sani. Ma presso di noi le difficoltà sono gravi. Quante volte vediamo infermi che, al cedere di altre malattie, sono presi da febbre intermittente, che prima era rimasta latente, e non di rado è dovuta ad una infezione di data anche più antica? Nè più, concludente potrebbe riuscire l'esperimento in persone sane, dopo che sappiamo che coloro, i quali soggiornano in località malariche respirano il miasma febbrigeno, e ne possono rimanere infetti senza tuttavia venirne affetti. Però ritengo che le prove negative da contraporre alle positive, cioè la ricerca di un sangue di persona non infetta dalla malaria, il quale sangue non dovrebbe contenere bacilli, debba eseguirsi in un luogo di aria sana, in individui sani, ciò che non posso fare per ora.

Faccia, egregio professore, quel conto che crede di queste poche mie osservazioni, che non tralascerò di proseguire, e della quale La terrò informata (1).

Mi abbia sempre

Roma 29 novembre 1880.

Dño Matteo Lanzi

(1) Dai studî che si stanno ora facendo risulta intanto che nel sangue dei febbricitanti rinchiuso nei soliti tubetti di vetro, e tenuto in una stufa alla temperatura costante di 35-40° cent. si è constatato da uno di noi (Cuboni) che dopo due o tre giorni il numero dei bacilli si trova notevolmente accresciuto.

ROMA

2115

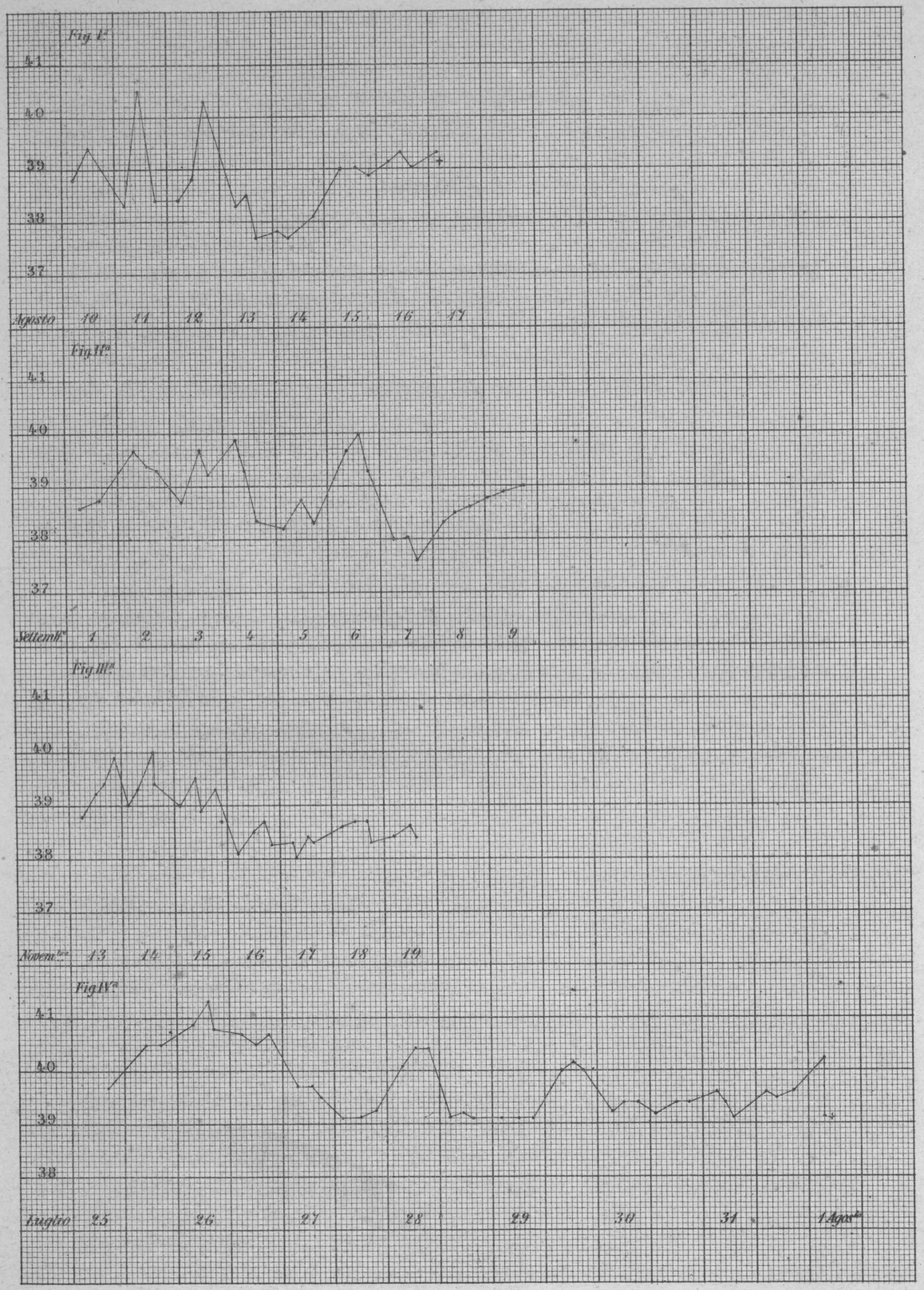
SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE.

Tavola I.

FIG. 1. Curva termometrica del Cane n. 1. Injezione intratracheale di poche goccie di sangue di un uomo febbricitante.
» 2. Curva termometrica del Cane n. 2. Injezione intraperitoneale di sangue di un febbricitante.
» 3. Curva termometrica del Cane n. 3. Injezione intratracheale di sangue di un febbricitante.
» 4. Curva termometrica di un Coniglio. Injezione sottocutanea di diluzione di polpa splenica di un uomo morto di perniciosa comatosa.

Tavola II.

FIG. 5. Impronta naturale della milza del Coniglio.
» 6. Forme bacillari di varia lunghezza trovate nei cadaveri di uomini morti di perniciosa, ottenute per le colture del sangue dei febbricitanti, e che furono trovate una volta nel sangue espirato dalla milza di un febbricitante (Oc. 3. Obiettivo 10. Hartnack).
» 7. Forme bacillari trovate nel sangue dei febbricitanti (Oc. 3. 10. Hartnack).
» 8. Forme bacillari, le quali si trovano più comunemente nel sangue dei febbricitanti nel periodo d'invasione (Stadio del disfacimento dei bacilli secondo il prof. Tommasi-Crudeli) (Oc. 3. Ob. 10. Hartnack).
» 9. Cervello gremito di emorragie puntiformi di un uomo morto di perniciosa comatosa.
» 10. Due emorragie puntiformi dello stesso cervello. I vasellini sanguigni che si trovano nel centro delle medesime, contengono, oltre cellule bianche pigmentate, granulazioni uniformi, brillanti, resistenti all'azione dell'ac. acetico (Oc. 2. Ob. 7. Hartnack).



Lit. Bruno e Salomone Roma

BIBLIOTECA MEDICA
ROMA

Fig. 9

Fig. 5ª

Fig. 6ª

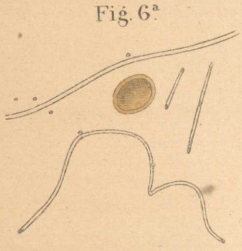


Fig. 7ª

Fig. 10

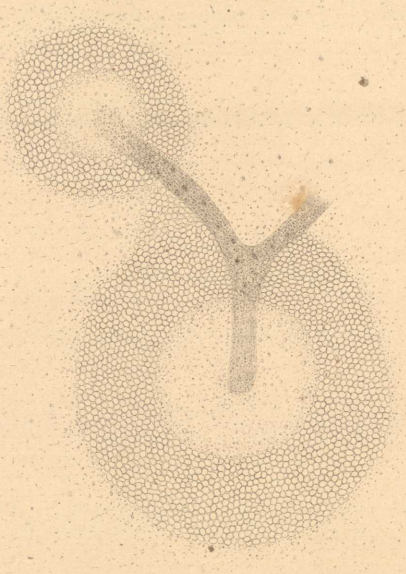
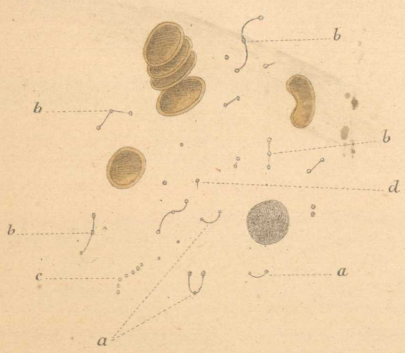


Fig. 8ª



Lit. Bruno e Salomone Roma