



Amagru

LABORATORIO DI MICROGRAFIA E BATTERIOLOGIA DELLA SANITÀ PUBBLICA

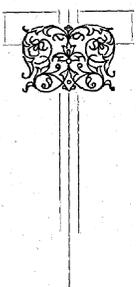
Direttore Prof. B. GOSIO

M. B. 37/16

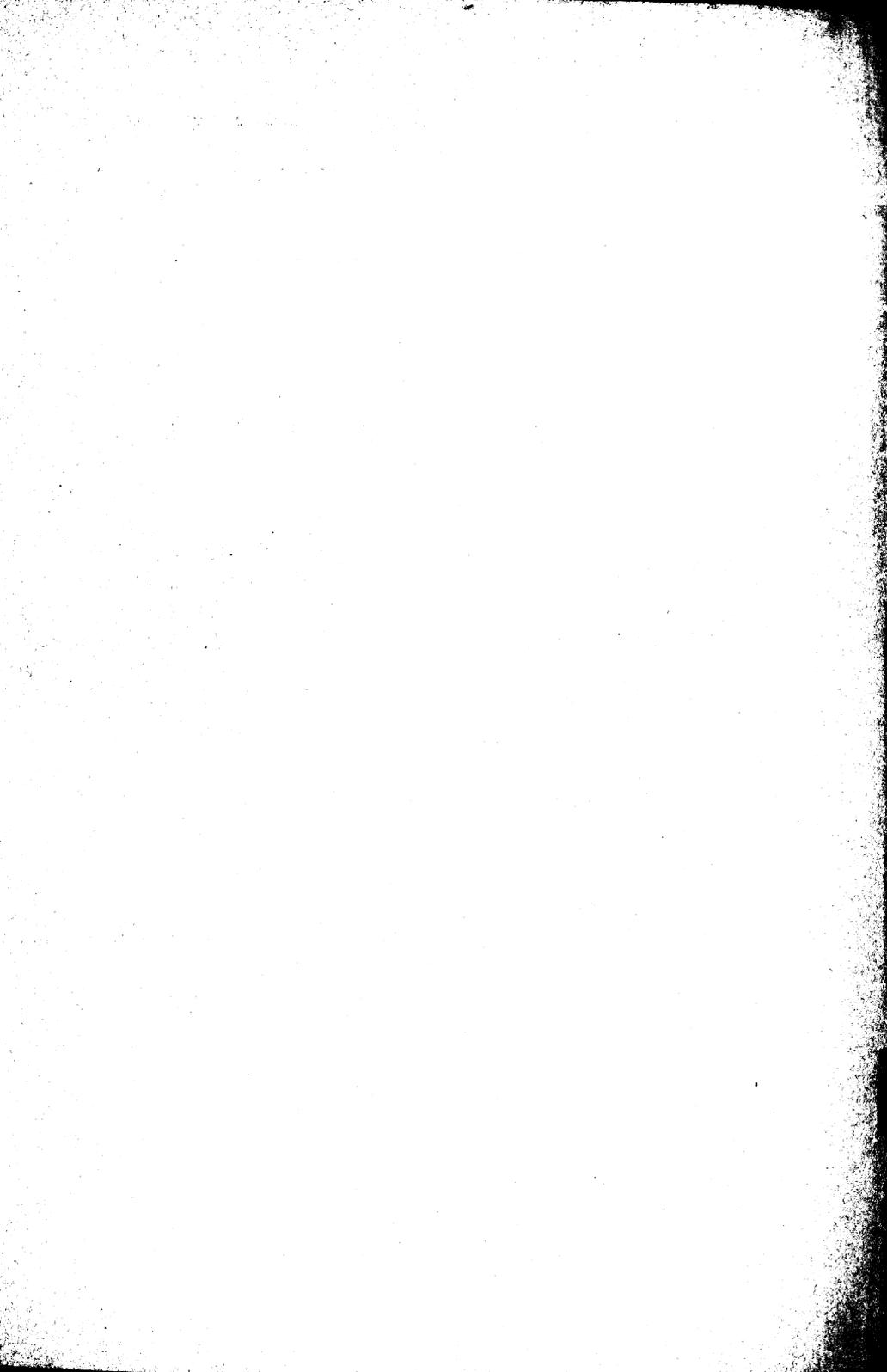
STUDIO
DI UN BATTERIO PATOGENO
PER GLI ANIMALI
ISOLATO DA CARNI INSACCATE

Nota Seconda

DOTT. M. PERGOLA
Assistente



ROMA
TIPOGRAFIA DELLE MANTELLATE
MCMXII



LABORATORIO DI MICROGRAFIA E BATTERIOLOGIA DELLA SANITÀ PUBBLICA

Direttore Prof. B. GOSIO

STUDIO
DI UN BATTERIO PATOGENO
PER GLI ANIMALI
ISOLATO DA CARNI INSACCATE

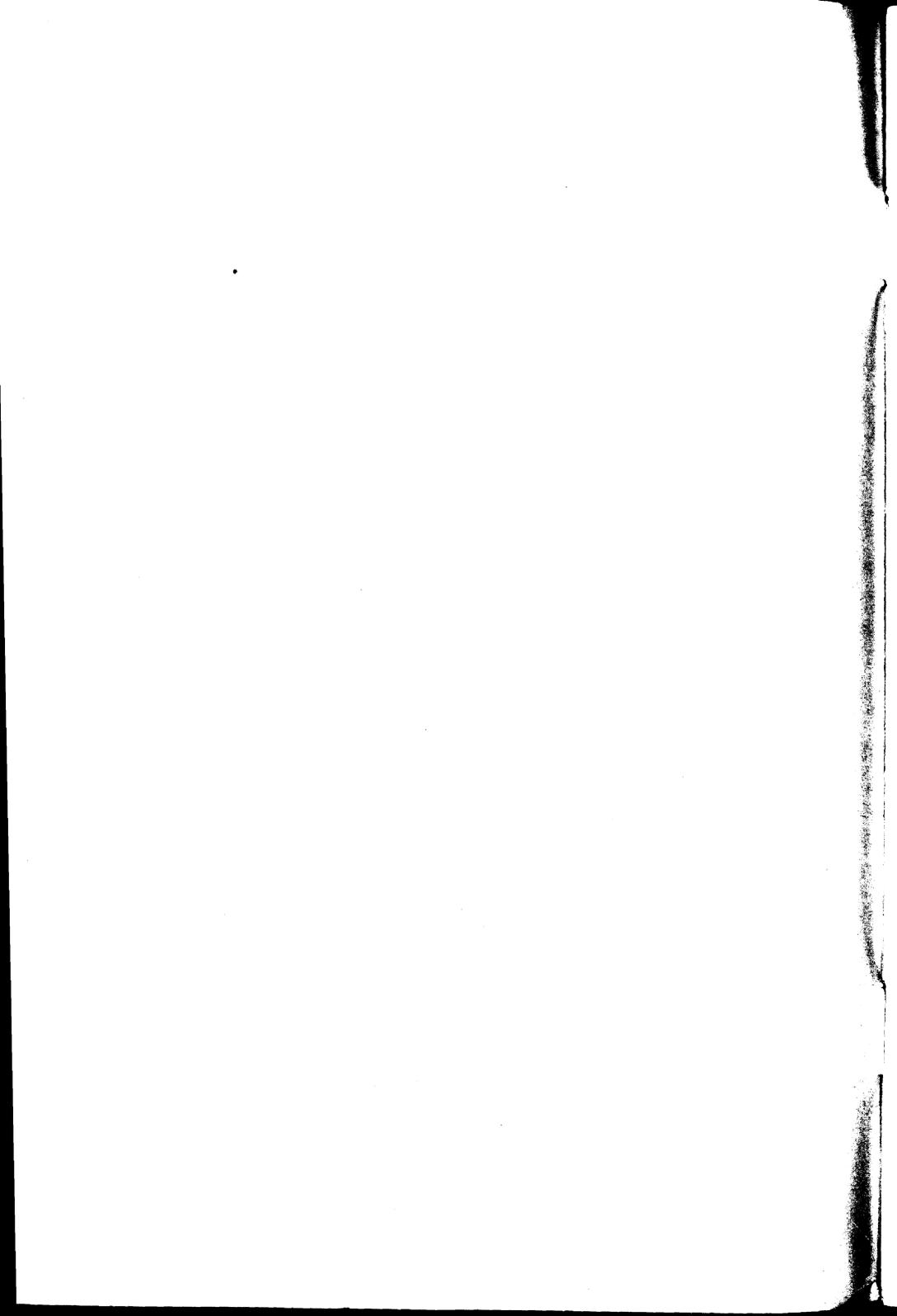
Nota Seconda

DOTT. M. PERGOLA

Assistente



ROMA
TIPOGRAFIA DELLE MANTELLATE
—
MCMXII



STUDIO DI UN BATTERIO PATOGENO per gli animali isolato da carni insaccate

Per il Dott. M. PERGOLA - Assistente

NOTA SECONDA

Ina un mia precedente nota su questo medesimo argomento, ¹⁾ ho esposto i caratteri morfologici, di colorazione e culturali di un batterio, indicato colla denominazione di *Bacillo di Lugo*, perchè avevo avuto occasione di isolarlo da carni insaccate provenienti appunto dal comune di Lugo, (provincia di Ravenna) e che avevano provocato fenomeni morbosi in vari individui, che di essi si erano alimentati. Ne ho riferito anche alcune azioni biochimiche (indolo, proteinoeromo, idrogeno solforato), concludendo che, in base alle ricerche fino allora eseguite, il B. in esame era da riportarsi, colla massima probabilità, al gruppo *Proteus*. Riferirò oro lo studio ulteriormente eseguito per stabilire, mediante ricerche più precise, se il giudizio di probabilità emesso doveva rigettarsi, o trasformarsi in giudizio assoluto e definitivo. A tale scopo intrapresi le

PROVE SIERODIAGNOSTICHE.

Col B. di Lugo immunizzai dei conigli, dai quali ottenni un immunsiero che mi servì per l'agglutinazione e per la prova di Pfeiffer, o batteriolisi. L'immunizzazione fu praticata nel seguente modo:

19 Gennaio 1910 - Inoculazione endovenosa di un'ansa di agarcoltura di 24 ore, emulsionata in soluzione fisiologica

sterile e sottoposta al riscaldamento a 60°-65° C. per un'ora.

16 Gennaio 1910 - Inoculazione endoperitoneale di mezza patina di agarcoltura di 24 ore, trattata come sopra.

25 Gennaio 1910 - Inoculazione endoperitoneale di una patina di agarcoltura di 24 ore, trattata come sopra.

1 Febbraio 1910 - Inoculazione endoperitoneale di due patine di agarcoltura di 24 ore, trattate come sopra.

8 Febbraio 1910 - Inoculazione endoperitoneale di mezza patina viva di agarcoltura di 24 ore.

20 Febbraio 1910 - Inoculazione endoperitoneale di una patina viva di agarcoltura di 24 ore.

5 Marzo 1910 - Salasso dell'animale.

Interessandomi di fare ricerche comparative, con trattamento immunizzatorio analogo a quello indicato pel B. di Lugo, preparai i relativi immunsieri anche pel *Proteus vulgaris*, pel B. paratifico B, pel B. enteritidis di Gärtner, pel B. paratifico A e pel B. del tifo.

Agglutinazione - Le diluizioni del siero per tutte le prove di agglutinazione sono state fatte secondo il seguente schema.

I	diluizione 1:10	= 1 cc. di siero	+ 9 cc. di soluz. fisiol. sterile
II	» 1:25	= $\frac{1}{2}$ »	+ 12 » » » »
III	» 1:50	= 5 cc. II	diluiz. + 5 cc. di soluz. fisiol. sterile
IV	» 1:100	= 1 » I	» + 9 » » » »
V	» 1:250	= 1 » II	» + 9 » » » »
VI	» 1:500	= 1 » III	» + 9 » » » »
VII	» 1:1.000	= 1 » IV	» + 9 » » » »
VIII	» 1:2.500	= 1 » V	» + 9 » » » »
IX	» 1:5.000	= 1 » VI	» + 9 » » » »
X	» 1:10.000	= 1 » VII	» + 9 » » » »

Ad 1 cc. di ciascuna di queste diluizioni, posto in un tubetto da agglutinazione, ho aggiunto cc. 1 di emulsione batterica omogenea, ottenuta emulsionando tre patine di agarcoltura di 24 ore con cc. 25 di soluzione fisiologica sterilizzata e filtrando per filtro di carta pure sterilizzato. Le prove di agglutinazione corrispondevano perciò rispettivamente alle diluizioni di 1:20; 1:50; 1:100; 1:200; 1:500; 1:1.000; 1:2.000; 1:5.000; 1:10.000; 1:20.000.

Ho fatto inoltre un controllo, ponendo in uno dei soliti tubetti cc. 1 di semplice soluzione fisiologica, alla quale poi ho aggiunto cc. 1 di emulsione batterica. Ciò per accertarmi che i germi non subissero l'agglutinazione spontanea.

Ho posto i tubi in termostato a 37° C per due ore e quindi ho constatato il risultato coll'osservazione macroscopica.

Batteriolisi - Il siero dei medesimi conigli, che avevo utilizzato per la prova agglutinante, mi servì anche per la batteriolisi praticata coi quattro soliti germi: B. di Lugo, *Proteus vulgaris*, B. paratifico B, e B. enteritidis di Gärtner. Eseguii questa ricerca in vivo nel peritoneo della cavia e la tecnica fu la seguente: In cc. 1 di brodo sterile, stemperai un'ansa di agarcoltura, tenuta per circa 18 ore in termostato a 37° C, vi aggiunsi cc. 1 della diluizione 1:200 di immunisiero e inoculai il tutto nel peritoneo della cavia. Servendomi quindi di tubetti capillari, aspirai dopo 20 minuti dall'inoculazione un po' di liquido peritoneale, col quale feci l'esame a goccia pendente e in preparati colorati. Questo esame fu ripetuto quattro volte, sempre a distanza di una ventina di minuti l'una dall'altra. Ecco frattanto nella seguente tabella (*Tabella II*) i risultati ottenuti. Il segno + indica batteriolisi positiva, il segno - assenza di batteriolisi.

TABELLA II.

PROVA DELLA BATTERIOLISI.

BATTERI SOTTOPOSTI ALLA PROVA	Immunisiero pel B. di Lugo	Immunisiero pel <i>Proteus vulgaris</i>	Immunisiero pel B. paratifico B	Immunisiero pel B. enterit. Gärtner
B. di Lugo	+	+	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	-	-
B. paratifico B.	-	-	+	-
B. enteritidis di Gärtner	-	-	-	+

Immunizzazione - Col B. di Lugo, col *Proteus vulgaris*, col B. paratifico B e col B. enteritidis di Gärtner è possibile immunizzare attivamente gli animali (cavie e conigli): ritenni quindi opportuno valermi anche di questa prova per identificare il batterio che stavo studiando. Perciò, immunizzai gli animali con ciascuno dei quattro microrganismi, li inoculai con dosi sicuramente mortali (come risultavano per gli animali di controllo) dei batteri non usati pel trattamento ed ebbi i risultati esposti nella seguente tabella (*Tabella III*)

TABELLA III.

PROVA DELL'IMMUNIZZAZIONE.

MICROORGANISMO USATO PER L'IMMUNIZZAZIONE	MICROORGANISMO INOCULATO IN DOSE SICURAMENTE MORTALE	ESITO
B. di Lugo	Proteus vulgaris	Gli animali sopravvivono
B. di Lugo	B. paratifico B	» soccombono
B. di Lugo	B. enteritidis di Gärtner	» »
Proteus vulgaris	B. di Lugo	Gli animali sopravvivono
Proteus vulgaris	B. paratifico B	» soccombono
Proteus vulgaris	B. enteritidis di Gärtner	» »
B. paratifico B	B. di Lugo	» »
B. paratifico B	Proteus vulgaris	» »
B. enteritidis di Gärtner	B. di Lugo	» »
B. enteritidis di Gärtner	Proteus vulgaris	» »

I risultati delle ricerche sierodiagnostiche e immunizzatorie sono così evidenti, che mi dispensano da una lunga dilucidazione. Dalle tabelle infatti si rileva che gli animali immunizzati col B. di Lugo danno siero agglutinante e batteriolitico per questo stesso microrganismo e pel *Proteus vulgaris* e inattivo pel B. paratifico B e pel B. enteritidis di Gärtner; resistono inoltre alla inoculazione di una dose sicuramente mortale di *Proteus vulgaris*, mentre soccombono cogli altri due batteri. Analogamente si comportano gli animali immunizzati col *Proteus*, in quanto resistono alla dose sicuramente mortale di B. di Lugo e non a quella di B. paratifico B e di B. enteritidis: per questi poi il loro siero è inattivo, mentre è agglutinante e batteriolitico pel *Proteus* e pel B. di Lugo. Infine gli animali immunizzati col B. paratifico B, o col B. enteritidis di Gärtner, danno siero veramente attivo, alle prove dell'agglutinazione e della batteriolisi, soltanto col corrispondente batterio e non resistono all'inoculazione di dose sicuramente mortale di B. di Lugo, o di *Proteus vulgaris*. Il B. di Lugo dunque corrisponde al *Proteus vulgaris* non solo per i caratteri morfologici e culturali, ma, ciò che è più importante, anche pel comporta-

mento alle prove sierodiagnostiche e immunizzatorie. Rimane quindi in modo definitivo confermato il giudizio emesso, che cioè detto microrganismo appartiene al gruppo *Proteus* e volendolo identificare anche più esattamente si può dire che corrisponde al *Proteus vulgaris*.

Un altro studio rimaneva pertanto da fare ed era quello relativo al

POTERE PATOGENO.

Che il B. di Lugo (per evitare equivoci continuerò a indicarlo con questa designazione) fosse patogeno per conigli, cavie e ratti, mi risultava già dalle ricerche preliminari eseguite colle prime culture ottenute dalle carni in esame. Si trattava ora di ampliare le esperienze in proposito, per conoscere più dettagliatamente il quadro morboso che si svolgeva in questi animali e vedere inoltre se pure altre specie erano recettive o meno per questo microrganismo.

Ho quindi rivolta la mia attenzione, oltre che al coniglio, alla cavia e al ratto, anche al topolino bianco, al cane, al gatto e al piccione. Le vie seguite per l'introduzione del germe nell'organismo sono state complessivamente: la sottocutanea, l'endoperitoneale, l'endovenosa e la digerente.

Riferisco qui il protocollo di alcune esperienze relative alle singole specie animali.

ESPERIENZE CON CULTURE FRESCHE.

A. - Esperienze nei conigli.

a) - Inoculazione per via sottocutanea.

25 Giugno 1910 - Coniglio giovane del peso di gr. 380. Alimentazione con crusca e foglie di cavolo. Al mattino si inocula, alla parte mediana della regione addominale destra, 1 cc. di brodo sterile in cui si emulsionano 2 anse normali di cultura in agar obliquo di 24 ore.

Alla sera di questo stesso giorno l'animale si mostra sofferente e la zona cutanea, nella quale è stata inoculata la cultura, si mostra alla palpazione come ispessita e di consistenza pastosa.

26 Giugno 1910 - Al mattino il coniglio si trova morto.

Reperto necroscopico - La regione perineale è imbrattata di feci poltacee, molli, di colorito verde cupo. Null' altro di interessante si rileva alla semplice ispezione esterna dell' animale. Nel tessuto sottocutaneo si trova un intenso edema gelatinoso-emorragico, che rende la pelle molto più spessa del normale. Tale edema si estende notevolmente, oltre il punto di inoculazione, verso le regioni inguinali e ascellari, specie a destra, degradando però progressivamente d' intensità. Tutti i vasi sanguigni del sottocutaneo e dei muscoli toraco-addominali sono ingorgati, per cui appare bene evidente anche la rete capillare. Non si riscontrano emorragie. Le ghiandole linfatiche inguinali e ascellari, alquanto ingrossate e perciò facilmente visibili, sono di colorito rossastro. All' apertura dell' addome si rileva nella cavità peritoneale una scarsissima quantità di liquido. I vasi del peritoneo parietale sono iniettati e subito colpisce anche la evidente iniezione dei vasi del mesentere e dell' intestino tenue. Minore è l' iniezione vasale nel crasso. Il contenuto intestinale del tenue è rappresentato da un liquido mucoso filante, di colorito giallastro sporco; il contenuto del crasso è poltaceo, molle e di colorito verde cupo. Anche nel retto non si trovano feci formate. Nulla di notevole presenta lo stomaco, ad eccezione di una lieve iniezione vasale della sua superficie esterna. Il fegato iperemico e forse anche un po' aumentato di volume ha un colorito scuro. La milza non molto aumentata di volume è essa pure iperemica e di colorito rosso cupo. Le capsule surrenali evidentemente congeste al pari dei reni.

Cavità toracica - Non si rileva presenza di liquido nelle cavità pleuriche. I polmoni sono di colorito rosso abbastanza marcato. Il cuore, specialmente nelle orecchiette, è ripieno di sangue scuro in parte liquido, in parte coagulato.

Dal sangue del cuore e da vari organi (polmone, milza, fegato, rene, capsula surrenale e ghiandole linfatiche inguinali) si fanno culture e preparati a strisciamento per l' esame microscopico. I preparati colorati col metodo di colorazione semplice e col Gram, previo trattamento con soluzione di acido acetico all' 1 %, mostrano un numero piuttosto scarso di bacilli, che pei caratteri morfologici e di colorazione ricordano il B. di Lugo.

Le semine danno tutte sviluppo in cultura pura a un bacillo, che si identifica con quello inoculato.

6 Gennaio 1911 - Coniglio del peso di gr. 1480. Inoculato come il precedente alle ore 19 circa con 4 anse di cultura in agar obliquo di 24 ore, emulsionate in cc. 2 di soluzione fisiologica sterile.

7 Gennaio 1911 - Al mattino il coniglio si trova morto.

Il reperto necroscopico analogo al precedente mi esime dal farne una relazione dettagliata. Accennando quindi in breve a quanto di più interessante si è rilevato, ricorderò l'edema gelatinoso abbastanza esteso nel sottocutaneo, specialmente dal lato stesso nel quale era stata praticata l'inoculazione, l'aspetto nettamente emorragico delle ghiandole linfatiche inguinali e ascellari di ambedue i lati, la presenza di scarsa quantità di liquido lievemente emorragico nella cavità peritoneale, l'intensa iperemia del mesentere e dell'intestino tenue, che in molteplici punti ha dato luogo a chiazze emorragiche, alcune delle quali anche abbastanza estese, il contenuto liquido, mucoso, di colorito giallo sporco, del tenue medesimo e l'iperemia ben marcata di tutti gli organi.

Le culture e i preparati microscopici fatti dal sangue del cuore e dai vari organi danno come reperto il B. di Lugo. Riesce facile isolare lo stesso germe dal contenuto del tenue mediante strisciamenti sull'emoagar del Dieudonné.

Per accertare se la temperatura degli animali presentasse un comportamento in qualche modo interessante, ho rivolto ad essa l'attenzione in varie esperienze, delle quali riferisco la seguente:

19 Luglio 1910 - Coniglio del peso di gr. 1150. Si inocula sotto cute con 3 anse di cultura in agar obliquo di circa 24 ore, emulsionate in cc. 1,5 di brodo sterile. La temperatura rettale normale del coniglio, tenuto in osservazione nei 2 giorni precedenti a quello dell'inoculazione, ha oscillato attorno a 39-40° C.

L'inoculazione si pratica il 19 Luglio 1910 alle ore 10. La temperatura rettale misurata immediatamente avanti la inoculazione è di 39°9 C. Le misurazioni successive danno i seguenti risultati:

19	Luglio	1910.	Ore	15,45	-	Temperatura	rettale	40°,9	C
»	»	»	»	18,	»	»	»	40°,8	
»	»	»	»	20	»	»	»	40°,8	
20	»	»	»	10	»	»	»	41°	
»	»	»	»	18,30	»	»	»	41°,2	
21	»	»	»	10	»	»	»	41°	

21 Luglio 1910. Ore 18 - Temperatura rettale 35°

» » » » 20 » » 34°

22 » » - Al mattino si trova morto.

Il reperto necroscopico è analogo ai precedenti e lo stesso risultato dànno pure le culture e i preparati microscopici fatti dal sangue del cuore e dai vari organi.

b) - **Inoculazione endoperitoneale.**

25 Giugno 1910 - Coniglio giovane del peso di gr. 430. Inoculato alle ore 10 circa con cc. 1 di brodo sterile, in cui è stata emulsionata un'ansa di cultura in agar obliquo di 24 ore.

25 Giugno 1910, ore 17 - L'animale muore. Le feci emesse poco prima della morte appaiono poltacee, molli, di colorito verde cupo.

Reperto necroscopico - L'addome si presenta tumefatto e alla palpazione si avverte la tensione piuttosto notevole delle pareti. Nel tessuto sottocutaneo si riscontra una certa succulenza (lieve edema), per cui la pelle si lascia facilmente distaccare. Nel tessuto sottocutaneo e nella parete muscolare toraco-addominale si trova ben disegnata la rete vascolare sanguigna. Le ghiandole linfatiche inguinali e ascellari non appaiono ben visibili.

Cavità addominale - Si riscontra una discreta quantità di liquido rossastro evidentemente siero-emorragico. Il peritoneo parietale fortemente iniettato, al pari del mesentere. Le anse intestinali, specialmente quelle del tenue, sono rigonfie per contenuto prevalentemente gassoso.

L'iniezione vasale intensa ha dato luogo in alcuni punti ad emorragie, che in corrispondenza di singole anse assumono l'aspetto di una vera e propria infiltrazione emorragica. Le anse del tenue che non si mostrano rigonfie hanno un contenuto liquido, mucoso, filante, di colorito rosso sporco. Anche il colon si presenta iperemico, ma meno intensamente ed è ripieno di feci poltacee, molli, di colore verde cupo. Assenza di feci formate in tutto il tratto intestinale. Lo stomaco presenta iperemia visibile della sua superficie esterna. Fegato e milza congesti, non molto aumentati di volume e di colorito rosso cupo.

Del pari iperemici i reni e le capsule suprarenali.

Nel torace - Scarso liquido lievemente emorragico nelle cavità pleuriche. Polmoni arrossati e che al taglio lasciano

fluire una quantità relativamente abbondante di sangue. Pericardio con vasi iniettati. Cuore ripieno di sangue scuro in parte liquido e in parte coagulato.

La semina nei substrati ordinari (brodo e agar) del sangue del cuore, del liquido peritoneale e di piccoli frammenti di organi, prelevati in modo da evitare il trasporto di germi eventualmente esistenti nel liquido delle cavità pleuriche e peritoneale, dà sviluppo in cultura pura al B. di Lugo, che si riscontra in scarsa quantità anche nei preparati colorati fatti cogli stessi liquidi e organi.

La morte, così rapidamente determinata in questo coniglio, mi impedì di tener dietro all'andamento della temperatura.

Riporto qui il protocollo di altro coniglio, nel quale potei fare tale ricerca.

13 Gennaio 1911 - Coniglio del peso di gr. 1400. Inoculo nel peritoneo, alle ore 18 circa, 3 anse di cultura in agar obliquo di 24 ore.

La temperatura rettale, presa nei due giorni precedenti all'esperienza, ha oscillato fra 39° C e 40° C.

14 Gennaio 1911, ore 10 - Temperatura rettale 37° C

» » » » 12 - » » 36° C

L'animale non emette più feci formate, bensì poltacee, molli, di colorito verde cupo: è apatico e non mangia.

Ore 14,45 Temperatura rettale 35°,2 C

» 17 » » 34° C

» 19 » » 32° C

Il coniglio si mostra in preda a un tremore generale del corpo.

15 Gennaio 1911 - Al mattino si trova morto e probabilmente la morte è avvenuta già da varie ore.

Il reperto necroscopico è analogo ai precedenti. In questo animale però appaiono tumefatte e lievemente emorragiche le ghiandole linfatiche inguinali di ambedue i lati.

Le semine praticate come nel coniglio precedente e inoltre dalla bile e dall'urina danno sviluppo in cultura pura al B. di Lugo, che si isola facilmente anche dalle feci.

Dalla vescica si preleva una certa quantità di urina che appare limpidissima. La ricerca dell'albumina ne rivela la presenza in modo evidente, ma non in quantità abbondante. Assenza di cilindri.

c) - Inoculazione endovenosa.

21 Gennaio 1911, ore 18 - Due conigli, uno del peso di gr. 1250 l'altro di gr. 1350, inoculati nella vena marginale dell'orecchio il primo con cc. 1 di soluzione fisiologica sterile, in cui sono state emulsionate due anse di cultura in agar di 24 ore e il secondo con 4 anse.

22 Gennaio 1911 - Al mattino si trovano morti ambedue.

Il reperto necroscopico è analogo a quello già riferito per gli altri conigli. L'addome non è teso, nel tessuto sottocutaneo non si riscontra edema gelatinoso, ma un certo grado di succulenza e iperemia vasale, che si estende anche alla parete muscolare dell'addome e del torace. Esiste scarsa quantità di liquido nelle cavità sierose (pleura, pericardio e peritoneo). Iperemia marcata di tutti gli organi interni, il contenuto intestinale del tenue è liquido, mucoso, giallo sporco, quello del crasso poltaceo, molle, di colore verde cupo, con assenza di feci formate.

Le culture dal sangue del cuore, dalla bile e dai vari organi danno sviluppo al B di Lugo. Anche i relativi preparati microscopici colorati mettono in evidenza lo stesso microrganismo in scarsa quantità.

Riporterò ancora un'altra esperienza la quale dimostra che, pure nell'inoculazione endovenosa, la temperatura si comporta come negli altri casi.

Coniglio del peso di gr. 1270. Inoculo nella vena marginale dell'orecchio cc. 1 di soluzione fisiologica sterile, contenente 3 anse della solita cultura di 24 ore. La temperatura rettale nei due giorni precedenti oscilla fra 39° e 40° C.

24 Gennaio 1911, ore 9 - Temperatura rettale 39°,3 C. Inoculazione endovenosa.

24 Gennaio 1911, ore 11 - Temperatura rettale 42°. Le feci sono ancora formate.

24 Gennaio 1911, ore 15,30 - Temperatura rettale 40°. Le feci sono ancora formate.

24 Gennaio 1911, ore 18 - Temperatura rettale 38°,5. Le feci sono ancora formate.

24 Gennaio 1911, ore 19 - Temperatura rettale 37°. Le feci sono ancora formate.

24 Gennaio 1911, ore 20 - Temperatura rettale 35°,2. Le feci sono ancora formate.

25 Gennaio 1911 - Al mattino si trova morto. Le alterazioni riscontrate all'autopsia sono: forte iniezione dei vasi

del sottocutaneo, con assenza di edema gelatinoso, e di quelli dei muscoli toraco-addominali. Ghiandole linfatiche inguinali e ascellari tumefatte, emorragiche. Scarso liquido sieroso nel peritoneo e nelle pleure, in quantità più apprezzabile nel pericardio. Vasi del mesenterio fortemente congesti. Iperemia degli organi toracici e addominali, lieve però nelle capsule surrenali. Il contenuto del tenue è fluido, mucoso, giallo sporco, quello del crasso, poltaceo, verde cupo, mentre nell'ultimo tratto dell'intestino si trovano ancora feci formate.

La semina del sangue del cuore, della bile e di frammenti di vari organi danno in coltura pura il B. di Lugo. Questo si isola facilmente anche dal contenuto del tenue, i cui preparati microscopici colorati, fatti per stisciamento, mostrano, come quelli della bile, un numero molto scarso di batteri, tra i quali un bacillo che per caratteri morfologici e di colorazione ricorda il B. di Lugo.

d) - Ingestione.

Due conigli, uno A del peso di gr. 1000, l'altro B di gr. 1350. Vengono alimentati nel seguente modo:

22 Gennaio 1911 - Crusca con 3 patine di cultura in agar di 24 ore, emulsionate in soluzione fisiologica sterile.

23 Gennaio 1911 - Crusca con 4 patine culturali.

24 Gennaio 1911 - Al mattino si nota che il coniglio A è sofferente: nulla di notevole mostra il coniglio B. Si sospende tuttavia la somministrazione delle culture. Nel pomeriggio di questo stesso giorno, il coniglio A va aggravandosi sempre più. Rifiuta il cibo ordinario che gli viene offerto, si mostra molto debole e nei movimenti cade facilmente disteso. Con misurazioni termometriche, praticate precedentemente alla somministrazione delle culture, ci si accerta che la temperatura rettale dei conigli è normale (oscilla cioè fra 39 e 40° C).

Ecco ora come si comporta durante l'esperienza:

		Coniglio A.		Coniglio B.	
22 Gennaio 1911,	ore 10,30	- Temp. rettale	40°,C	39°,5C	
»	»	»	»	39°,8	39°,7
23 Gennaio 1911,	» 10	- »	»	40°	40°
»	»	»	»	39°,6	39°,8
24 Gennaio 1911	» 10	- »	»	38°	39°,5
»	»	»	»	37°,3	39°,6
»	»	»	»	35°,6	39°,2

		Coniglio A.		Coniglio B.	
24	Gennaio 1911, Ore 17	- Temp. rettale	31°,5	39°	
»	» » » » 18	- » »	33°,7	38°,5	
»	» » » » 20	- » »	31°	38°,5	
25	Gennaio 1911 » 9	-	Si trova morto	38°	
»	» » » » 12	-	»	38°,7	
»	» » » » 15	-	»	39°	
»	» » » » 19	-	»	39°,4	
26	Gennaio 1911 » 10	-	»	39°,6	
»	» » » » 18	-	»	41°	

Il coniglio B sopravvive.

All'autopsia del coniglio A si trova: addome non teso, iniezione vasale del tessuto sottocutaneo non molto intensa, ma apprezzabile, poco visibili i vasi della parete muscolare del torace e dell'addome. Ghiandole linfatiche inguinali e ascellari alquanto ingrossate ed evidentemente emorragiche. Vasi del peritoneo parietale lievemente congesti. Assenza di liquido nelle grandi cavità sierose. Vasi dello stomaco iniettati al pari di quelli del mesentere e del tenue, meno quelli del crasso. Ad eccezione della milza, che presenta il suo aspetto normale, gli altri organi addominali e gli organi toracici sono iperemici. Il contenuto del tenue è fluido, mucoso, filante, giallo sporco, quello del crasso poltaceo e non si trovano feci formate neppure nell'ultimo tratto dell'intestino. Cistifellea ripiena di bile mucosa filante. L'urina limpidissima contiene albumina in discreta quantità, non glucosio. All'esame microscopico non si trovano cilindri, nè altri elementi interessanti che costituiscono il sedimento.

Si praticano culture dal sangue del cuore, dall'urina, dalla bile, dal contenuto del tenue, da una delle ghiandole ascellari e dai vari organi. Danno sviluppo al B. di Lugo la bile, la ghiandola linfatica e il fegato; dal contenuto intestinale pure è facile isolare il B. di Lugo, ma le altre culture rimangono sterili.

B. - Esperienze nelle cavia.

a) - Inoculazione sottocutanea.

24 Gennaio 1910, ore 9 - Cavia del peso di gr. 260. Inoculo sotto cute 2 anse di cultura in agar di 24 ore di B. di Lugo, emulsionate in cc. 1 di brodo sterile.

Verso la sera dello stesso giorno la cavia si mostra abbattuta e presenta un movimento oscillatorio continuo del corpo, non si muove più agilmente e sembra quasi paretica. È molto indebolita di forze, tanto che facendola cadere di fianco, stenta a risollevarsi. Più tardi la si trova distesa, ha respiro superficiale ed emette dei gemiti. Alle ore 19 circa muore.

All'autopsia si riscontra intenso edema gelatinoso emorragico molto esteso nel sottocutaneo, ove si trovano fortemente congesti i vasi, al pari di quelli dei muscoli della parete toraco-addominale. Ghiandole linfatiche inguinali e ascellari tumefatte e rosse. Presenza di liquido nel cavo peritoneale: iniezione vasale evidentissima del mesentere e delle anse intestinali, specialmente di quelle del tenue il cui contenuto è fluido, mucoso, filante, giallastro. Iperemici tutti gli organi addominali come pure quelli del torace. Scarso liquido nelle cavità pleuriche e nel pericardio.

La semina del sangue del cuore e degli organi dà sviluppo in cultura pura al B. di Lugo.

23 *Giugno 1910* - Cavia di gr. 300. Si inocula sottocute con una ansa della solita cultura di 24 ore. emulsionata in cc. 1 di brodo sterile.

28 *Giugno 1910* - Al mattino si trova morta. Già fino dalla sera precedente la cavia era molto deperita e in gravi condizioni. Doveva anche essere in preda a fenomeni dolorosi, perchè emetteva gemiti.

All'autopsia si riscontra forte ed esteso edema gelatinoso marcatamente emorragico, associato a iniezione vasale nel sottocutaneo e a congestione dei vasi della parete muscolare del torace e dell'addome. Le ghiandole linfatiche inguinali e ascellari sono tumefatte e arrossate. Il peritoneo parietale mostra i vasi congesti, al pari di quelli del mesentere. Nel cavo peritoneale, modica quantità di liquido sieroso. Gli organi addominali sono iperemici, come pure quelli del torace. Il contenuto intestinale è nel tenue fluido, mucoso, giallo sporco, in tutto il resto del tratto intestinale poltaceo. Scarso liquido sieroso esiste anche nelle cavità pleuriche e nel pericardio.

Le culture del sangue del cuore rimangono sterili, danno sviluppo invece al B. di Lugo quelle fatte dal fegato e dall'edema sottocutaneo.

b) - Inoculazione endoperitoneale.

4 Luglio 1910, ore 10 - Cavia di circa 400 gr. Inoculo nella cavità peritoneale 1 ansa di cultura in agar di 24 ore, emulsionata in cc. 1 di soluzione fisiologica sterile. Alle ore 15,45 dello stesso giorno la cavia si trova già in condizioni gravissime; muore alle 19 circa.

In questo animale fu studiato anche l'andamento della temperatura, la quale nei giorni precedenti all'inoculazione oscillò fra 38° e 39° C.

4 Luglio 1910, ore 10 - Temperatura rettale 38°,3 C Inoculazione endoperitoneale.

4 Luglio 1910, ore 12 - Temperatura rettale 38° C.

4 Luglio 1910, ore 14,30 - Temperatura rettale 35° C.

4 Luglio 1910, ore 15,45 - Temperatura rettale 33° C.

4 Luglio 1910, ore 18,30 - Temperatura rettale 31° C.

In altre cavie la temperatura scese anche al disotto di 31° C; la minima riscontrata fu di 27° C.

Reperto necroscopico: Alla palpazione si avverte l'addome gonfio, colle pareti fortemente tese.

Il tessuto sottocutaneo presenta iniezione vasale evidentissima e un certo grado di succolenza (lieve edema). Anche la superficie muscolare dell'addome e del torace ha i vasi congesti.

Nell'addome: discreta quantità di liquido siero-emorragico, peritoneo parietale con vasi sanguigni congesti, al pari di quelli del mesentere. Organi addominali fortemente iperemici. Alcune anse del tenue presentano addirittura un' infiltrazione emorragica, estesa per un certo tratto e contengono una massa fluida, mucosa filante, con evidenti tracce di sangue, altre sono fortemente distese da contenuto in prevalenza gassoso. Nel crasso e nel retto la massa fecale è poltacea, molle. La cistifellea è distesa da notevole quantità di bile. Tracce evidenti di liquido sieroso si trovano nelle cavità pleuriche e nel pericardio. Organi del torace iperemici.

Le culture fatte dal liquido peritoneale, dal sangue del cuore, dalla bile e dai vari organi danno sviluppo al B. di Lugo, che si isola facilmente anche dal contenuto del tenue. I preparati microscopici colorati, fatti per strisciamento con ciascuno di questi materiali, mostrano l'esistenza in scarsa quantità di un bacillo, che, pei caratteri morfologici e di colorazione, non differisce da quello iniettato.

c) - **Ingestione.**

13 *Gennaio 1911* - Due cavie, una A di gr. 220 l'altra B di gr. 270, si alimentano con pane imbevuto con emulsione in soluzione fisiologica di 4 agarculture di 24^{ore}.

Temperatura rettale al momento dell'esperienza :

A = 38°,4 C. B = 38°,6 C.

14 *Gennaio 1911* - Si alimentano le cavie come il giorno precedente.

15 *Gennaio 1911* - Si ripete l'alimentazione infetta.

16 *Gennaio 1911* - Al mattino si trovano ambedue le cavie in gravi condizioni. La temperatura rettale è per A 29° C, per B non si può misurare, causa il prolasso di un certo tratto dell'intestino che si mostra emorragico.

Verso le ore 11 ambedue le cavie sono morte.

Il reperto necroscopico è analogo per i due animali. Vi è nel sottocutaneo iniezione vasale e una certa succulenza, che permette di distaccare facilmente la pelle. Il peritoneo parietale e il mesentere presentano i vasi fortemente congesti, al pari di quelli dell'intestino tenue, il cui contenuto è mucoso, sanguinolento. Il resto dell'intestino contiene una massa poltacea. Il contenuto dello stomaco è mucoso vitreo e la mucosa gastrica è iperemica. Iperemici pure sono gli organi dell'addome e del torace. La cistifellea è fortemente distesa da bile, mucosa, filante.

Si fanno culture dal sangue del cuore, bile, fegato e contenuto intestinale del tenue. Quelle del sangue del cuore rimangono sterili, quelle del fegato e della bile danno in cultura pura il B. di Lugo, che si isola pure dal contenuto intestinale.

C. - Esperienze nei muridi.

a) - **Inoculazione sottocutanea.**

4 *Luglio 1910* - Un ratto bianco macchiato di nero e un topolino albino si inoculano, alla sera, sottocute all'addome: il ratto con 2 anse di cultura in agar di 36 ore, il topo con 1 ansa.

6 *Luglio 1910* - Al mattino si trovano morti ambedue gli animali.

Il reperto all'autopsia è analogo: edema sottocutaneo e iniezione vasale marcata. Congesti anche i vasi del perito-

neo parietale, del mesentere e dell'intestino, specialmente quelli del tenue, il cui contenuto è liquido, giallastro mucoso. Milza e fegato di colorito scuro, ricchi di sangue e di volume forse lievemente aumentato. Capsule surrenali e reni iperemici. Cuore ripieno di sangue scuro. Polmoni arrossati e iperemici.

L'esame microscopico di preparati, fatti per strisciamento dal succo degli organi, mostra la presenza di un bacillo, che pei caratteri morfologici e di colorazione corrisponde a quello inoculato. Le colture dal sangue del cuore e dagli organi danno sviluppo al B. di Lugo.

b) - **Inoculazione endoperitoneale.**

8 *Luglio 1910* - Un ratto bianco pezzato di nero e un topolino albino si inoculano nella cavità peritoneale con 2 anse il primo, con 1 ansa il secondo, di cultura in agar di 48 ore.

9 *Luglio 1910* - Al mattino si trovano morti.

Alla sezione: Iperemia del tessuto sottocutaneo e della parete muscolare toraco-addominale. Il peritoneo parietale iniettato, al pari di quello viscerale, specie in corrispondenza dell'intestino tenue, che ha un contenuto mucoso, giallo sporco. Nel cavo peritoneale, scarso liquido siero sanguinolento. Fegato, milza e reni di colorito rosso cupo e ricchi di sangue. Anche le capsule surrenali sono fortemente congeste. Rari vasi sanguigni congesti sulla parete dello stomaco, la cui mucosa pure appare lievemente iperemica. Cuore ripieno di sangue scuro, polmoni iperemici. Assenza di liquido nelle cavità pleuriche.

Le colture dal sangue del cuore e dagli organi danno sviluppo al B. di Lugo, che si vede in scarsa quantità anche nei preparati colorati fatti dal sangue e dagli organi.

c) - **Ingestione**

Quattro ratti bianchi pezzati di nero vengono sottoposti al seguente trattamento:

13 *Gennaio 1911* - Pane imbevuto con emulsione in soluzione fisiologica sterile di 4 patine in agar obliquo di 48 ore.

14 *Gennaio 1911* - Al mattino si trova morto un ratto.

Agli altri tre rimasti si somministra lo stesso alimento che il giorno precedente.

15 Gennaio 1911 - Al mattino si trova morto un altro ratto.

I due ratti che ancora rimangono vengono messi di nuovo alla alimentazione normale e sopravvivono.

Alla sezione dei ratti, morti in seguito all'ingestione del cibo infetto, si riscontra di notevole fenomeni di gastro enterite, con iniezione vasale intensa specialmente delle anse del tenue, il cui contenuto è mucoso e di colore giallo sporco. Anche nello stomaco si riscontra un contenuto molle, quale normalmente non vi esiste. Tutti gli organi sono iperemici e di colorito scuro.

Nel ratto morto il 14 gennaio 1911, le culture fatte dal sangue del cuore, dalla milza e dal rene rimangono sterili, mentre danno sviluppo al B. di Lugo quelle fatte dal contenuto intestinale e dal fegato; nel ratto morto il 15 Gennaio 1911, oltrechè dal contenuto intestinale e dal fegato, si isola il B. di Lugo anche dal sangue del cuore.

Altra esperienza è stata fatta coi topolini albini.

Tre topolini albini vengono alimentati nel seguente modo:

13 Gennaio 1911 - Pane imbevuto con emulsione in soluzione fisiologica sterile di 2 patine di 48 ore di B. di Lugo.

14 Gennaio 1911 - Al mattino si ripete la somministrazione di cibo infetto.

Alla sera di questo stesso giorno muoiono 2 topolini.

Il reperto della sezione è analogo a quello dei ratti bianchi.

Dal contenuto intestinale si isola il B. di Lugo e in uno dei topolini lo si ottiene anche dal sangue del cuore, dal fegato e dalla milza.

D. - Esperienze nei gatti.

19 Luglio 1911 - Due piccoli gatti del peso di circa gr. 500 si inoculano uno sotto cute e l'altro nel peritoneo con mezza patina di cultura in agar di 36 ore.

20 Luglio 1911 - Muore il gatto inoculato nella cavità peritoneale.

Alla sezione si trova: Iperemia sottocutanea associata con un certo grado di succolenza (lieve edema). Le ghiandole inguinali e ascellari sono alquanto aumentate di volume e di aspetto emorragico.

Nel cavo peritoneale si riscontra scarsa quantità di li-

quido, lievemente sanguinolento. Modica iperemia degli organi addominali. L'intestino non presenta nulla di particolarmente notevole.

Organi toracici pure iperemici.

I preparati colorati fatti dal sangue del cuore, dagli organi e dalla bile mostrano rari bacilli, che pei caratteri morfologici e di colorazione ricordano il B. di Lugo.

Le culture dagli organi e dal sangue del cuore danno sviluppo al bacillo inoculato.

27 Luglio 1911 - Muore il gatto inoculato sottocute.

Nei giorni decorsi da quello dell'inoculazione a quello della morte, l'animale si è mostrato sofferente e negli ultimi due giorni aveva perduto l'appetito. Si nota frattanto progressiva emaciazione, mentre al punto di inoculazione persiste una tumefazione con tutto l'aspetto di un ascesso che non giunge però ad aprirsi.

Il quadro anatomico patologico differisce dal precedente soltanto per la presenza nel tessuto sottocutaneo di una raccolta di sostanza densa, gialla omogenea che ricorda appunto una raccolta purulenta e tale risulta anche all'esame microscopico fatto con preparati colorati. Quivi si riscontrano in scarso numero bacilli, che, come dimostrano anche le prove culturali fatte dalla sacca ascessuale, sono B. di Lugo.

Le culture praticate dal sangue del cuore rimangono sterili.

Si ripete l'esperienza in un'altra coppia di gatti più adulti, inoculati però colla medesima dose di cultura, cioè con mezza patina.

Il gatto inoculato nel peritoneo si mostra abbastanza gravemente ammalato il giorno consecutivo a quello dell'inoculazione, ma poi va rimettendosi e sopravvive.

L'altro gatto, inoculato per via sottocutanea, soffre di un ascesso che si sviluppa al punto d'inoculazione. Anche questo si mostra sofferente per qualche tempo, poi l'ascesso si apre, si svuota e guarisce. L'animale sopravvive.

E. - Esperienze nei cani.

8 Febbraio 1911 - Due cani del peso di circa Kg. 4,500.

Si inoculano, uno sottocute con 4 patine di cultura in agar di 24 ore emulsionate in soluzione fisiologica sterile e l'altro nel peritoneo con 3 patine.

Gli animali sopravvivono nè mostrano mai alcun segno di sofferenza.

F. - Esperienze nei piccioni.

29 Luglio 1911 - Due piccioni giovani s'inoculano uno sottocute, con 1 patina di cultura su agar di 24 ore, sospesa in soluzione fisiologica sterile e l'altro nel peritoneo con 1 patina di cultura su agar pure di 24 ore.

Gli animali non mostrano alcun segno di sofferenza e sopravvivono.

* * *

Riassumendo: il germe in esame dunque è risultato patogeno pel coniglio, per la cavia, per i muridi (ratti bianchi macchiati di nero e topolini albini) e per il gatto.

Non è risultato patogeno invece pel cane e pel piccione.

Le esperienze citate non sono che una parte di quelle eseguite, dal cui complesso si rileva che come avviene di solito in simili ricerche, per le varie specie di animali sensibili al potere infettante del microrganismo, non tutti i singoli individui sono morti: l'esito finale perciò non è stato costante, mentre tale si può dire il potere patogeno dispiegato dal germe, poichè anche gli animali che hanno sopravvissuto si sono mostrati quasi tutti ammalati. La sopravvivenza maggiore e più frequente si è avuta nella infezione per via gastrica.

Come si desume dai protocolli delle esperienze sopra riportati, allo scopo di studiare il potere patogeno del B. di Lugo sono state sempre utilizzate agarculture fresche e di queste, anzichè di culture in substrati liquidi, ho fatto uso per varie ragioni: innanzi tutto per poter meglio dosare la carica batterica che, per l'una via o per l'altra, veniva introdotta nell'organismo e poi anche per evitare, per quanto fosse possibile, l'azione di una qualsiasi sostanza tossica, eliminata dal germe nei substrati liquidi. Vedremo in seguito se la produzione di tossine ha luogo e in quali condizioni. Pel momento cerchiamo di ricostruire, in base alle osservazioni fatte durante l'esperienze e in base ai reperti necroscopici rilevati all'autopsia, il quadro morboso che si svolge negli animali recettivi pel B. di Lugo. E questa ricostruzione possiamo anzi farla in modo generale, prescindendo cioè

dalle singole specie animali e fino a un certo punto anche dalla via seguita per introdurre il germe patogeno nell'organismo, perchè i reperti necroscopici riferiti in realtà non differiscono notevolmente col variare di quelle circostanze (specie animale e via di introduzione del germe nell'organismo) per cui basterà soltanto rilevare le differenze laddove ne sarà il caso.

La prima osservazione frattanto che si impone è quella relativa al decorso della malattia. Esso ordinariamente è acuto, poichè la malattia giunge all'esito letale in pochi giorni e talvolta acutissimo, poichè la morte dell'animale avviene anche in meno di 12 ore. Le variazioni che si verificano in proposito dipendono, come è facile comprendere, a parità delle altre condizioni e dalla dose di cultura inoculata e dalla via seguita per l'inoculazione. Infatti diminuendo oltre un certo limite la quantità di batteri che si introducono nell'organismo, l'animale, come varie volte è avvenuto, sopravvive e sacrificatolo dopo un tempo più o meno lungo, non si riscontra alcuna manifestazione morbosa degna di nota e che si possa riferire all'azione del germe inoculato. Solo due volte ho verificato eccezioni a questo proposito. Nel primo caso si trattava di un coniglio del peso di gr. 1300, inoculato sottocute con un'ansa di agarcultura di 24 ore. L'animale morì dopo circa un mese e presentava fortissimo dimagrimento, mentre nel tessuto sottocutaneo, al punto dell'inoculazione, esisteva una massa grossa come una nocciuola, dall'aspetto di sostanza caseosa. Una massa analoga si trovava pure nel cavo addominale nel punto perfettamente corrispondente all'altra e aderente al peritoneo parietale. Gli organi addominali erano saldati tra loro da essudato fibrinoso, ma singolarmente considerati non presentavano nulla di notevole, al pari degli organi toracici.

All'esame microscopico le due masse sopra notate si trovarono costituite essenzialmente da leucociti, senza che si riuscisse a vedervi alcun batterio. Furono praticate culture dal sangue del cuore, dai vari organi nonchè dalle due masse suddette, ma solo queste ultime dettero sviluppo a un bacillo che fu identificato col B. di Lugo: tutte le altre rimasero sterili.

Il secondo caso corrisponde perfettamente al primo: si trattava pure qui di un coniglio, del peso di gr. 1100, inoculato sottocute il 13 gennaio 1911 con due anse di cultura in agar di 24 ore. L'animale morì l'11 febbraio 1911, pre-

sentando all'autopsia lo stesso quadro sopra descritto, se se non che, le raccolte purulente erano più numerose: se ne avevano una al punto d'inoculazione e sei (tre più grandi e tre più piccole) nel peritoneo e solo esse nelle culture dettero sviluppo al *B. di Lugo*.

Queste osservazioni sono rimaste isolate, ma dimostrano ad ogni modo che il microrganismo in esame può provocare anzichè una malattia a decorso acuto, una forma morbosa ad andamento cronico e determinare processi suppurativi localizzati, come appunto i risultati dell'esame microscopico diretto e delle culture autorizzano a interpretare le raccolte riscontrate nel sottocutaneo e nel peritoneo.

Del resto a prescindere da questi casi, la morte alquanto tardiva si ha qualche volta nella infezione per ingestione, mentre tal'altra l'animale rimane in vita senza presentare nessun fenomeno morboso apprezzabile o solo qualche lieve disturbo. Ho voluto però ricercare se in questi casi l'animale era realmente insensibile all'azione del microrganismo ingerito, o se invece non si trattasse di vera e propria guarigione, in quanto, dopo aver superato una malattia che non raggiungeva la gravità sufficiente per ucciderlo, l'organismo si ristabiliva nelle condizioni normali di salute. A questo scopo ho preso vari animali della stessa specie (ratti, cavie e conigli) ne ho lasciato uno come controllo ad alimentazione con crusca semplice e gli altri ho alimentato con crusca mescolata ad agarculture di *B. di Lugo*. Orbene, anche somministrando l'alimentazione così infettata per una sola volta e uccidendo dopo uno o due giorni gli animali, che apparentemente erano in condizioni normali di salute, come quello di controllo, ho trovato quasi sempre in atto dei fenomeni di enterite, interessanti specialmente il tenue. Le anse di questo erano iperemiche e il contenuto, mucoso, filante, giallastro, quale si riscontra costantemente negli animali venuti a morte per decorso naturale dell'infezione.

Le colture fatte dal sangue del cuore di questi animali rimangono sterili, ma si isola con facilità il germe dal contenuto del tenue. Da tale reperto è lecito dunque dedurre che, quando gli animali sopravvivono alla ingestione di materiale inquinato con *B. di Lugo* e uccisi dopo un tempo più o meno lungo non presentano alcuna alterazione morbosa, si deve pensare che essi in realtà sono stati dapprima ammalati e poi guariti almeno dell'enterite che già tanto precocemente il germe provoca.

In quanto al quadro fenomenologico dovuto all'infezione, esso è analogo all'incirca a quello che si verifica in generale in tutte le infezioni sperimentali acute. L'animale cioè perde la sua vivacità, perde l'appetito e quindi rifiuta il cibo, s'indebolisce molto, onde i movimenti sono torpidi, lenti e faticosi, emette dei gemiti, specialmente quando la malattia è abbastanza progredita, il che denota l'insorgenza di sensazioni dolorose, si stabilisce diarrea, per cui le feci emesse non sono più formate, ma poltacee molli, si manifesta un tremito generale, gli arti divengono paretici e finalmente l'animale si trova disteso su un lato del corpo, compie talvolta come dei movimenti convulsivi, ha respiro superficiale, diventa freddo e perdurando questi fenomeni interviene la morte.

Molto interessante è l'andamento della temperatura, andamento che si è dimostrato costante, qualunque fosse la via per cui l'animale era stato infettato. Ne ho riferiti sopra vari esempi e non mi soffermerò quindi in tanti particolari, bastandomi rilevare che in generale in un primo periodo la temperatura tende ad elevarsi, sebbene di poco, al disopra della norma, mentre in un secondo periodo si stabilisce ipotermia, che, lieve all'inizio, va sempre più accentuandosi fino a diventare marcatissima (anche di 8-10° C sotto la norma), quanto più ci si avvicina al momento della morte. In alcune forme acutissime la temperatura rettale è scesa fino a 27° C un'ora prima della morte. È questo forse un fenomeno d'intossicazione? Lo vedremo nelle ricerche fatte per lo studio della produzione di sostanze tossiche.

Anche il quadro delle lesioni anatomopatologiche risulta abbastanza costante, tanto da prestarsi benissimo ad una esposizione generica quale mi accingo a fare.

Nel tessuto sottocutaneo si trova sempre una forte iperemia, associata ad edema gelatinoso, emorragico, intenso ed esteso, nell'inoculazione per via ipodermica, per cui la pelle si distacca facilmente, a un grado lieve di edema che si manifesta sotto forma di succulenza maggiore della normale, negli altri casi. Le ghiandole linfatiche inguinali e ascellari si presentano tumefatte e ordinariamente arrossate. I muscoli della parete toracica e addominale hanno i vasi congesti, in modo poco accentuato però quando l'animale ha contratto l'infezione per via digerente. L'addome è teso fortemente nell'inoculazione endoperitoneale, tensione che manca, quando l'infezione è avvenuta per altra via. Il peritoneo parietale presenta sempre i vasi congesti e quando la peritonite risulta

ancor più manifesta, come in modo spiccato si riscontra nella inoculazione endoperitoneale, si ha presenza di essudato sieroso o sieroemorragico, in quantità più o meno apprezzabile, nella cavità peritoneale. Talvolta quando la malattia dura più a lungo, l'essudato può anche tendere al fibrinoso. Il fegato, la milza e i reni hanno un colorito scuro dovuto alla iperemia marcata che sempre si stabilisce; non si mostrano però notevolmente aumentati di volume. La cistifellea spesso è ripiena di bile mucosa, filante. Le cassule surrenali sono esse pure di solito congeste, e assumono un colorito rossastro, che raggiunge talvolta il carattere emorragico. Lo stomaco mostra alla superficie i vasi sanguigni ben disegnati, specialmente nella infezione per ingestione, nel qual caso anche la mucosa si riscontra iperemica e il contenuto gastrico può essere costituito da una massa molle, che giunge talvolta ad assumere aspetto mucoso vitreo. Ma le maggiori e più visibili alterazioni si trovano nel tenue, il quale presentasi sempre più o meno gravemente interessato, in quanto dalla intensa congestione vasale si passa alla esistenza di piccole emorragie e alla infiltrazione emorragica della parete, estesa per un certo tratto. Il suo contenuto è sempre mucoso, filante, giallo sporco e talora emorragico, come più spesso avviene nell'infezione per via digerente. Qualche volta, e di solito nella inoculazione endoperitoneale, alcune anse del tenue sono molto rigonfie per contenuto prevalentemente gassoso. Iperemia meno marcata la presenta il crasso, ove il contenuto è poltaceo e tale rimane anche nell'ultimo tratto dell'intestino, ad eccezione di qualche caso, in cui nel retto si riscontrano ancora feci formate. I vasi del mesentere, dai più grossi tronchi fino ai capillari, sono turgidi e quindi ben manifesti.

Nel torace le cavità pleuriche e pericardica contengono talvolta liquido sieroso scarso e ciò di solito quando anche nel peritoneo esiste essudato. I polmoni sono di colorito rosso più o meno intenso e dalla superficie di taglio lasciano fluire facilmente il sangue; non presentano però noduli pneumonitici o altre speciali localizzazioni morbose. Anche il pericardio e il miocardio presentano i vasi congesti e le cavità cardiache, specie le orecchiette, sono ripiene di sangue scuro, in parte fluido, in parte coagulato.

I preparati per strisciamento colorati, fatti dal sangue del cuore e dai vari organi mostrano la presenza del germe, sempre però in quantità limitata e le semine dal sangue, dai vari organi e da secreti, quale la bile e l'urina, danno

sviluppo in cultura pura al B. di Lugo, che si riesce facilmente ad isolare anche dal contenuto dell'intestino tenue, sebbene talvolta commisto con altri microrganismi. Ora poichè ciò avviene non solo nella infezione per via orale, ma altresì in quella per via ipodermica, endoperitoneale e endovenosa, è logica la deduzione che il batterio, comunque introdotto nell'organismo, riesce sempre a pervenire nel lume intestinale.

Nella infezione per via digerente lo sviluppo del microrganismo manca con frequenza nelle culture seminate col sangue del cuore, mentre è costante in quelle fatte dalla bile e dal fegato. Le ragioni di questo risultato forse sono varie: può invero il mancato sviluppo dipendere da che il B. di Lugo dal canale digerente non sempre passa nel circolo sanguigno, mentre sempre raggiunge il fegato per altra via, o, ciò che è più probabile, dappoichè in alcuni casi la cultura del sangue dà realmente risultato positivo, può dipendere dallo scarso numero dei germi presenti nel circolo, donde la difficoltà di svelarveli.

L'urina limpida e di reazione acida contiene albumina senza cilindri e non contiene zucchero.

In base dunque a questi risultati necroscopici e culturali, possiamo concludere che il B. di Lugo, comunque introdotto nell'organismo, determina negli animali ricettivi una setticemia, senza provocare di solito la formazione di focolai morbosi localizzati, pur dispiegando la sua azione in modo più visibile sull'intestino tenue, dal cui contenuto si può facilmente isolare.

Per studiare le lesioni istologiche ho esaminato, previa fissazione in alcool, inclusione in paraffina e colorazione doppia con ematossilina ed eosina, cuore, polmone, fegato, milza, rene, capsula surrenale, stomaco, intestino e masse muscolari, ma, a prescindere dal rene, non si trovano alterazioni anatomiche o istologiche degne di nota nel tessuto dei singoli organi: ciò che si rileva, è soltanto un forte riempimento generale dei vasi sanguigni.

Nel rene invece le cellule sono alterate nel loro protoplasma, presentano un aspetto granuloso e sembrano come in via di disfacimento, poichè non si vede bene il limite tra le singole cellule, che d'altra parte non hanno limite netto neppure al loro estremo libero, mentre il lume dei canali colli renali è occupato da una massa di aspetto granuloso, perfettamente identica a quella che costituisce il protoplas-

sma, senza che tuttavia esistano cilindri. Ciò fa pensare che la sostanza che riempie i canalicoli provenga precisamente dal disfacimento del protoplasma stesso. I nuclei cellulari sono ben conservati e ben colorabili.

Siffatte alterazioni degli elementi renali ci spiegano pertanto la presenza di albumina nell'urina con assenza di cilindri.

Ho praticato anche la ricerca del bacillo nelle sezioni, seguendo il metodo di colorazione indicato da Semenowicz e Marzinowjky ²⁾ cioè con liquido di Ziehl diluito e bleu di metilene di Löffler. Già nell'esame dei preparati fatti per strisciamento dai singoli organi, avevo rilevato che il germe non si ritrovava in grande quantità: tanto più difficile quindi sarebbe stato riscontrarlo nelle sezioni; ed infatti in molte non si riesce a vedere nessun microrganismo, in alcune si ritrova qualche bacillo situato nei vasi sanguigni. Del resto la presenza del B. di Lugo nei singoli organi è stata svelata ad evidenza per mezzo delle culture e la si doveva necessariamente ammettere già *a priori*, pel fatto che il batterio, penetrando in circolo per dar luogo alla setticemia, si distribuisce col sangue in tutto l'organismo.

ESPERIENZE PER LA RICERCA DI TOSSINE.

Per ricercare se il germe fosse eventualmente capace di produrre tossine, ho fatto culture in brodo ordinario, lasciandole in termostato per un mese. Quindi alcune sono state filtrate per candela Berkefeld e nel filtrato, assicuratommi della sua sterilità, ho ricercato la presenza di sostanze tossiche; altre sono state esposte *in toto* alla temperatura di 60-65° C per un tempo sufficiente ad ottenere l'uccisione dei batteri e, assicuratomene, ho ricercato se le culture così trattate agissero ancora come nocive negli animali da esperimento: conigli, cavie, ratti macchiati e topolini albini. Il materiale così preparato (filtrato o cultura uccisa) è stato introdotto nello organismo per varie vie: endovenosa, sottocutanea, endoperitoneale e digerente e su quest'ultima mi sono maggiormente soffermato, come quella che nel caso attuale assumeva più importanza, per ravvicinare le circostanze dell'esperimento a quelle naturali.

Ecco i protocolli di alcune di queste prove.

a) - Via endovenosa.

20 *Luglio 1911* - Si inoculano nella vena marginale dell'orecchio col filtrato sterile di coltura in brodo :

1 coniglio di gr. 800 con cc. 3

1 coniglio di gr. 900 con cc. 5

colla coltura in brodo uccisa a 60-65° C :

1 coniglio di gr. 850 con cc. 2

1 coniglio di gr. 900 con cc. 3.

21 *Luglio 1911* - Al mattino si trovano morti il coniglio inoculato con cc. 3 di filtrato e gli altri due inoculati colla coltura uccisa.

Il reperto della sezione è analogo per tutti; congestione marcata dei vasi sanguigni del tessuto sottocutaneo, che presenta anche un grado di succulenza superiore certamente al normale. Ghiandole linfatiche inguinali e ascellari alquanto ingrossate, per cui sono facilmente visibili e di aspetto emorragico.

Cavità addominale - Assenza di liquido nel cavo peritoneale, fegato, milza e reni di colorito scuro e ricchi di sangue. Le capsule surrenali pure sono iperemiche, ma in grado vario da un'animale all'altro e non eccessivo. Poco di notevole nello stomaco e nell'intestino, a prescindere da un coniglio che per tutto il tratto intestinale ha feci diarroidiche. Vasi mesenterici ripieni di sangue.

Cavità toracica — Polmoni iperemici e cuore ripieno di sangue prevalentemente fluido.

Le culture fatte dal sangue del cuore rimangono sterili.

b) - Via endoperitoneale.

28 *Giugno 1911* - Si inoculano col filtrato sterile di coltura in brodo :

1 coniglio di gr. 1200 con cc. 4

1 cavia di gr. 480 con cc. 3

1 cavia di gr. 270 con cc. 3

1 cavia di gr. 230 con cc. 2

1 ratto bianco e nero con cc. 2

1 topolino bianco con cc. 1 ;

con coltura in brodo uccisa a 60-65° C :

1 coniglio di gr. 700 con cc. 3

1 cavia di gr. 360 con cc. 2

1 cavia di gr. 170 con cc. 1

1 ratto bianco e nero con cc. 2

1 topolino bianco con cc. 1.

29 Giugno 1911 - Nel periodo di 24 ore muoiono tutti gli animali, eccetto il coniglio e il topolino bianco inoculati col filtrato sterile che sopravvivono anche nei giorni successivi.

Il quadro anatomico patologico, analogo in tutti gli animali, mi esime dal riferirlo per ciascuno separatamente. Prenderò come tipo quello delle cavie, che è il più manifesto, e dal quale però poco differisce quello degli altri animali.

L'addome non si presenta gonfio. Nel tessuto sottocutaneo e nella parete muscolare del torace e dell'addome si vedono iniettati i vasi sanguigni fino ai capillari. La pelle si distacca facilmente anche colla semplice trazione, perchè oltre all'edema gelatinoso che esiste per un piccolo tratto attorno al punto ove l'ago della cannula ha attraversato la parete addominale, in tutto il resto dell'ambito sottocutaneo fino alla radice degli arti, si trova lieve edema manifestantesi con una succulenza maggiore della normale. Ingrossate e iperemiche le ghiandole inguinali ed ascellari, ma non egualmente in tutti gli animali.

Nella cavità addominale si ritrova del liquido più o meno abbondante e sanguinolento. Iniezione vasale del peritoneo parietale e del viscerale, specialmente in corrispondenza dell'intestino tenue, ove si ha un contenuto giallo, mucoso, filante. Fegato e milza fortemente congesti e di colorito scuro, lievemente aumentati di volume. Del pari molto congesti sono i reni e le capsule surrenali che appaiono in alcuni animali di colorito rosso cupo, emorragiche. Mucosa gastrica arrossata in grado più o meno marcato.

Cuore ripieno di sangue scuro, polmoni lievemente rosei e quindi al contrario di altri organi, non eccessivamente iperemici.

Le culture dal sangue del cuore e dagli organi rimangono sterili.

Nelle cavie inoculate con cc. 3 di filtrato potei fare anche delle osservazioni termometriche, non avendole trovate morte al mattino del 29 giugno 1911. La temperatura rettale normale oscillava attorno a 39° C.

	Cavia di gr. 480	Cavia di gr. 270
Ore 9 - Temperatura rettale	38° C	36°,4 C
» 11	» 37°,2	34°
» 12	» 36°	33°,3
» 15	» 33°,8	si trova morta
« 16,30	» 31°,2	
» 18	la cavia ancora viva è in condizioni gravissime e muore dopo poco tempo.	

c) - Via sottocutanea.

8 *Luglio 1911* - Si inoculano col filtrato sterile di cultura in brodo:

- 1 cavia di gr. 500 con cc. 3
- 1 cavia di gr. 180 con cc. 2
- 2 ratti bianchi e neri con cc. 2
- 2 topolini albini con cc. 1:

colla cultura uccisa a 60-65° C:

- 1 cavia di gr. 320 con cc. 3
- 1 cavia di gr. 200 con cc. 1,5
- 2 ratti bianchi e neri con cc. 2
- 2 topolini albini con cc. 1.

In un periodo di tempo inferiore alle 24 ore muoiono gli animali inoculati colla cultura uccisa, ad eccezione di uno dei ratti che sopravvive all'esperienza.

Entro 48 ore muoiono, degli animali inoculati con filtrato, la cavia di gr. 180, uno dei ratti e uno dei topolini.

Anche in questa prova il reperto della sezione è anaflogico per tutti gli animali; non occorre quindi che lo riferisca per ciascuna di essi: basta riportare quello della cavia, che è il più grave, e sul quale si impronta il quadro anatomopatologico riscontrato negli altri.

Nel tessuto sottocutaneo: edema gelatinoso emorragico e succulenza emorragica, la quale determina l'aspetto come di una suffusione sanguigna estesa alla faccia profonda della cute, che si stacca facilmente con lieve trazione per tutto l'ambito addominale e toracico anteriore e laterale. Le ghiandole inguinali e ascellari sono un po' ingrossate ed emorragiche. I vasi della parete muscolare del torace e dell'addome sono iniettati. Poco congesti invece quelli del peritoneo parietale e più quelli del viscerale, specialmente all'intestino tenue, il cui contenuto è giallo sporco, mucoso, filante. Milza, fegato e reni di colorito scuro e ricchi di sangue. Le capsule surrenali sono emorragiche, con colorito rosso cupo, che le fa sembrare frammenti di milza negli animali inoculati colla cultura uccisa; iperemia di grado minore in quelli inoculati col filtrato. Mucosa gastrica lievemente rosea. Polmoni iperemici e cuore ripieno di sangue scuro.

Le culture dal sangue del cuore e dagli organi rimangono sterili.

Ecco il risultato di alcune misurazioni termometriche

eseguite nelle due cavie inoculate col filtrato sterile. La temperatura rettale normale oscillava attorno a 39° C

	Cavia di gr. 500	Cavia di gr. 180
9 Luglio 1911, ore 9 -	Temp. rettale 39°,5 C	38°,8 C
» » » » 12 -	» » 40°,2	39°,3
» » » » 18 -	» » 39°,8,	39°,9
10 Luglio 1911 » 9 -	» » 39°,2	37°,1
» » » » 12 -	» » 39°	35°,8
» » » » 15 -	» » 39°,1	30°,2
» » » » 16 -	» » 39°	si trova morta.

La cavia di gr. 500 sopravvive senz'altro di notevole. In altri animali la temperatura scese anche al disotto di 30°,2: la minima riscontrata fu di 27° C.

d) - Via digerente.

11 Luglio 1911 - Si sottopongono ad esperienza, alimentandoli per due giorni consecutivi con cibo misto con filtrato sterile di cultura in brodo:

2 cavie, di circa gr. 200.

2 ratti bianchi e neri

2 topolini albini;

con cultura uccisa a 60-65° C

2 cavie di circa gr. 350

2 cavie di circa gr. 200

4 ratti bianchi e neri

4 topolini albini;

Degli animali alimentati col filtrato sterile, muoiono dopo tre giorni, una cavia e un topolino, sopravvivono i due ratti, una cavia e un topolino, ma questi ultimi due, dopo aver ricevuto per la seconda volta il cibo mescolato col filtrato culturale, si sono dimostrati sofferenti apatici e sonnecchianti. La temperatura rettale, misurata nella cavia quando appunto mostravasi in preda a qualche risentimento morboso, si trova oscillare per varie ore fra 35° C e 36° C, a un grado quindi a cui normalmente non discende mai. E infatti una cavia del medesimo peso, tenuta nelle stesse condizioni, ma alimentata con cibo normale, ha dimostrato in quel periodo di tempo una temperatura rettale superiore di 2°-2°,5 C

Pertanto la cavia e il topolino sopravvissuti si sono riportati ad alimentazione normale e quando cominciarono a ristabilirsi, sono stati uccisi insieme con altri animali cor-

rispondenti tenuti nelle stesse condizioni, ma a vitto sano: la sezione ha dimostrato che in quelli alimentati col filtrato culturale esistevano ancora tracce di un processo morboso, che si era andato svolgendo, e che al momento dell' autopsia era in via di risoluzione. Queste tracce consistevano essenzialmente in congestione di tutti gli organi, poco marcata, ma bene apprezzabile pel confronto col controllo sano.

Degli animali alimentati colla cultura uccisa sopravvivono una delle cavie di gr. 350, tre ratti e tre topolini, gli altri muoiono entro tre giorni.

Il quadro anatomo patologico è come al solito analogo in tutti e precisamente: nel tessuto sottocutaneo sono ben visibili i grossi e medi vasi sanguigni: ghiandole linfatiche inguinali e ascellari lievemente aumentate di volume e arrossate. Gli organi addominali sono congesti, ma non eccessivamente. Più interessante è il contenuto mucoso, filante, bianco sporco, quale si trova nello stomaco e nell' intestino tenue. Iperemia più marcata si ha nei polmoni di alcuni animali e specialmente delle cavie. Cuore ripieno di sangue in gran parte fluido, scuro.

Le culture dal sangue del cuore e dagli organi rimangono sterili.

Risultato delle osservazioni termometriche praticate in alcune delle cavie alimentate con cultura uccisa: la temperatura normale oscilla fra 38° e 39° C.

		Cavia di gr. 350.		Cavia di gr. 200	
13	Luglio 1911, ore 9	- Temp. rettale	39°,4C	38°,2C	
»	»	» 18 -	» 39°	38°,4	
14	»	» 9 -	» 38°,3	36°,2	
»	»	» 12 -	» 37°	33°	
»	»	» 15 -	» 34°,2	si trova morto	
»	»	» 18 -	» 32°		

Anche la cavia di gr. 350 muore nella serata.

* * *

Già altrove ho accennata la questione se alcune manifestazioni del processo morboso fossero o meno da mettersi in rapporto coll' azione di una sostanza tossica. Ora i protocolli delle esperienze qui riferiti non lasciano più alcun dubbio in proposito: esiste dunque una tossina sia nelle cul-

ture in brodo uccise col riscaldamento a 60°-65°C, sia nel loro filtrato sterile. La cultura uccisa anzi è più attiva che non il filtrato, il che fa pensare che la tossina sia legata al corpo batterico, sia insomma una endotossina, che passa anche nel filtrato culturale pel disfacimento, cui col tempo vanno soggetti i batteri stessi. Infatti è solo in culture di una certa età che il filtrato è apprezzabilmente tossico, mentre i corpi batterici uccisi, anche se provenienti da culture su agar di 24-48 ore, agiscono tossicamente, sebbene in grado minore che le vecchie culture in brodo.

Il quadro morboso che si svolge coll' inoculazione delle culture vive è dunque il complesso risultante dall' azione infettiva e tossica del B. di Lugo. Quale la parte spettante a quest' ultima? Per chiarirla riassumiamo il quadro riscontrato negli animali morti per semplice intossicazione, venendo eliminata l' azione infettante o colla filtrazione, o coll' uccisione della cultura. E lo riassumerò in modo generale, poichè le note caratteristiche rimangono abbastanza costanti, indipendentemente dalla specie animale sottoposta ad esperimento e dalla via per cui la tossina è giunta nell' organismo. Solo l' azione locale, come ben si comprende, varia in rapporto alla via di introduzione, dispiegandosi più grave sulla parte dell' organismo, colla quale la tossina viene per prima in più diretto ed intimo contatto. Così, per esempio, le alterazioni del tessuto sottocutaneo raggiungono appunto la loro più alta manifestazione, quando la tossina viene introdotta direttamente sottocute, anzichè per altre vie.

Del resto per la via sottocutanea, per l' endoperitoneale, per l' endovenosa, e, ciò che più interessa, anche per la digerente, la tossina si mostra sufficientemente attiva. Infatti gli animali spesso soccombono, altre volte invece sopravvivono, ma per lo più ciò non significa che sono stati refrattari, bensì che hanno superato la malattia determinata dalla intossicazione.

Il quadro clinico non ha caratteri assolutamente speciali: quando il processo morboso si è stabilito, l' animale si fa apatico, non si muove, perde l' appetito e rifiuta il cibo. Intanto si determina un indebolimento generale dell' organismo, che va sempre più progredendo e l' animale si accascia, non si regge più nella posizione normale e cade disteso, rimanendovi fino alla morte. Qualche volta si ha diarrea, che si stabilisce già da varie ore prima dell' esito letale e, da quanto ho osservato, pare che essa stia in rapporto

non tanto colla durata della malattia, quanto piuttosto colla carica tossica introdotta nell'organismo, perchè ho avuto a riscontrarla non di rado in casi a decorso acutissimo (morte dell'animale in 7-8 ore).

La durata della malattia varia secondo la dose e la via di introduzione della tossina, ma ha di solito un decorso acuto che va da poche ore a qualche giorno, il che si verifica più specialmente nella intossicazione alimentare.

Interessante dal punto di vista clinico è anche in queste prove l'andamento della temperatura, che ci permette di apprezzare lo stato patologico dell'animale già quando il processo tossico non è ancora tanto progredito, da poterlo rilevare con facilità da altri criteri. La temperatura, analogamente a quanto si riscontra nelle esperienze con culture fresche, dapprima forse si eleva alquanto sopra la norma, ma ben presto interviene ipotermia, che lentamente progressiva all'inizio, è più rapida in seguito fino a raggiungere espressioni marcatissime (di 8°-10°C sotto la norma). E ciò si verifica non solo quando la malattia si svolge in uno o più giorni, ma anche quando ha un decorso acutissimo, da portare a morte l'animale in poche ore. Ricorderò che pure in queste esperienze in qualche caso ho osservato una temperatura rettale di 27°C un'ora avanti la morte.

All'autopsia, negli animali morti per decorso naturale del processo tossico, si trovano nel tessuto sottocutaneo e nella parete muscolare toraco addominale i vasi congesti più o meno intensamente, fino a vedere ben disegnata anche la rete capillare. Edema gelatinoso, di aspetto emorragico, esteso a una zona molto ampia si ha soltanto nella inoculazione sottocutanea. Esiste inoltre risentimento delle ghiandole linfatiche inguinali e ascellari, che si rendono quasi sempre visibili e iperemiche in grado talora tanto accentuato, da assumere un colorito rosso intenso, stato questo che non saprei definire meglio che chiamandolo emorragico.

L'addome di solito non si riscontra tumefatto, con pareti tese, neppure nella inoculazione endoperitoneale. Ripieni di sangue si trovano i vasi del peritoneo parietale e del mesentero e nella inoculazione endoperitoneale non manca esudato più o meno emorragico. Fegato e milza di volume forse lievemente aumentati e iperemici in vario grado: il colorito quindi è più cupo del normale, ma talora, specie nel fegato, questo carattere non è molto appariscente. Lo stesso dicasi dei reni, mentre nelle cassule surrenali l'iperemia è

costantemente rilevabile, sebbene anche qui in grado variabile, poichè da una lieve colorazione rosea si giunge fino a una colorazione rossa intensa e cupa, che lo fa apparire quasi come piccoli pezzi di milza.

Da parte dell'apparato digerente si hanno manifestazioni, qualunque sia la via per cui la sostanza tossica fu introdotta nell'organismo. Manifestazioni lievi talora e consistenti in semplice iperemia delle anse del tenue, sono altre volte molto più gravi, in quanto all'iperemia si associano i caratteri anormali del contenuto intestinale, che nel tenue si presenta mucoso, filante, bianco sporco o giallo sporco e si mantiene diarroico pure in tutto il resto dell'intestino. Lo stomaco spesso assume aspetto cianotico, ma solo nella ingestione della tossina il suo contenuto è non di rado mucoso vitreo.

Le cavità pleuriche mostrano poco essudato e solamente quando esso esiste anche nel peritoneo. I polmoni sono in preda a iperemia, che può andare da una lievissima colorazione rosea fino a una colorazione rosso cupa emorragica, non però questa uniformemente diffusa, ma limitata a una porzione più o meno estesa dell'organo. Il cuore è ripieno di sangue in gran parte fluido e scuro.

Le culture praticate dal sangue e dagli organi rimangono sempre sterili.

Mi sembra interessante ricordare la minore resistenza varie volte osservata che offrono alla intossicazione gli animali il cui fegato è lesa. Sperimentando coi conigli, mi è avvenuto di riscontrare non di rado il fegato affetto da coccidiosi piuttosto grave: orbene in questi casi il processo morboso aveva presentato decorso più rapido e manifestazioni di maggiore entità, che non in conigli ugualmente trattati, ma con fegato sano. Citerò qualche esempio: due conigli, del peso di circa un chilogramma, si inoculano nella vena marginale dell'orecchio con cc. 1,5 di cultura in brodo uccisa; uno muore in 8 ore, l'altro dopo 24 ore: il primo aveva il fegato profondamente alterato da coccidiosi; il secondo l'aveva normale. Risultato analogo ho verificato con conigli inoculati nel peritoneo.

Ho notato come non sempre gli animali che hanno ricevuto la tossina vengono a morte, rilevando anzi la possibilità che ammalino e guariscano. Quali criteri autorizzano tale deduzione? Innanzi tutto il fatto che questi animali mostrano fenomeni morbosi analoghi a quelli riferiti per i casi ad esito

letale, ma in seguito tornano vivaci, riprendono a mangiare e si ristabiliscono: poi il risultato di osservazioni termometriche, le quali indicano come per un certo periodo di tempo si abbia ipotermia lieve, corrispondente a un abbassamento di temperatura di 2°-3° C sotto la norma, ipotermia che scompare quando l'animale si avvia a ristabilirsi nelle condizioni normali di salute e infine le tracce del subito processo morboso, consistenti in alterazioni di carattere essenzialmente iperemico e rilevabili all'autopsia praticata in confronto con animali sani, non trattati cioè colla tossina.

Tornando ora al quadro clinico e anatomopatologico descritto per gli animali morti per intossicazione e riportandolo a quello riferito per gli animali inoculati con cultura viva, risalta subito la notevole corrispondenza tra l'uno e l'altro. Se ne deduce che nell'inoculazione con cultura viva, le manifestazioni cliniche e le alterazioni anatomico-patologiche sono da riportarsi in gran parte all'azione tossica del B. di Lugo, mentre l'azione infettante ha la sua più alta espressione nella setticemia: il microorganismo dunque è capace di determinare un processo misto tossi-infettivo.

Identificato il batterio e dimostrato che è patogeno per gli animali da esperimento, il compito essenziale che mi ero proposto rimaneva esaurito. Mi è sembrato però interessante fare anche qualche ricerca sulla

RESISTENZA

Il B. di Lugo, come sappiamo, non è sporigeno e quindi non offre caratteri speciali di resistenza.

Le culture in brodo, o quelle in agar, emulsionate in soluzione fisiologica, rimangono uccise in circa mezz'ora dalla temperatura di 60°-65° C. Questa stessa temperatura uccide il germe in 5', quando si emulsiona una ansa di cultura in cc. 2-3 di soluzione fisiologica.

Il calore umido a temperatura superiore a 65° C ne distrugge rapidamente la vitalità; resiste pochi secondi al vapore liberamente fluente.

Resiste meglio al calore secco (anche più di un ora a 65° C), all'essiccamento, alla luce diffusa, poco alla luce solare diretta e ai disinfettanti (acido fenico al 2%, e sublimato corrosivo al 1%).

Nelle culture in substrati liquidi o solidi, il germe rimane vivo per lunghissimo tempo (6-7 mesi e forse più) qualora si abbia la precauzione di tenerle al riparo dalla luce e dall'eccessivo essiccamento.

La virulenza invece nelle culture va diminuendo, ma la si eleva facilmente con passaggi negli animali.

* * *

Ed ora: Si deve considerare il *Proteus* isolato dalla carne, come l'agente mediato o immediato dei disturbi verificatisi nelle persone? Non mi trovo in grado di dare a questo proposito una risposta assoluta, perchè non potei ottenere nè feci, nè vomito degli ammalati, per ricercarvi il germe stesso, nè sangue per le indagini relative all'eventuale presenza di anticorpi. Varie considerazioni però rendono oltremodo probabile l'importanza di questo *Proteus*.

Dai diversi campioni di carne insaccata infatti non furono isolati che due batteri: uno, che per le ulteriori ricerche eseguite ho riconosciuto essere il *B. mesentericus vulgaris*, non risultato patogeno, l'altro il *Proteus*, risultato patogeno per gli animali e capace anche di dispiegare un'azione tossica.

Poichè non vi è dubbio che i disturbi verificatisi nelle persone fossero dovuti alla presenza nel salame di un qualche microrganismo, dal momento che se ne sono isolati due soli, è logico, esclusa l'importanza di uno, tendere a riconoscere l'importanza dell'altro, che in questo caso sarebbe appunto il *Proteus*.

Del resto già altre volte è venuto in questione il potere patogeno di questo germe. Scorrendo la letteratura, anche a prescindere da vari processi morbosi dell'uomo, che sottoposti a indagine batteriologica avrebbero portato all'isolamento di un *Proteus*, cui fu attribuita azione patogena, e limitandoci soltanto alle intossicazioni alimentari, troviamo riferiti vari casi, nei quali si fu indotti a riconoscere questo microrganismo come la causa dei disturbi provocati dalle carni. Tra i meglio studiati ricorderò i seguenti: il Levy ³⁾ riscontrò abbondante il *Proteus* in carne riuscita tossica, dopo conservazione in una ghiacciaia che si trovava in cattivo stato. Isolò anzi lo stesso germe dalle pareti della ghiacciaia e da-

gli organi di una persona venuta a morte in seguito all'avvelenamento.

Wesemberg ⁴⁾ riferisce sopra un'epidemia di 63 casi verificatisi a Mansfeld, in seguito all'uso di carne proveniente da una vacca macellata d'urgenza: vi trovò un *Proteus* patogeno per gli animali.

Glücksman ⁵⁾ pure riconosce il *Proteus* come causa dell'intossicazione alimentare verificatasi in due persone, che avevano ingerito carne cruda di suino macellato d'urgenza. Una di queste persone morì e lo stesso *Proteus* fu isolato dall'organismo dell'uomo.

Nel caso riferito da Silberschmidt ⁶⁾ si tratta di un'epidemia di 45 casi, provocata dall'ingestione di un prodotto indicato col nome di *Landjäger*, costituito da carne di bue o di vacca (talvolta anche carne di cavallo) aggiunta di grasso di maiale. Si ebbe a lamentare un decesso, ma all'autopsia non si riscontrò alcun reperto interessante. L'alimento che aveva causato i disturbi non si presentava affatto alterato nei suoi caratteri organolettici. Silberschmidt ne fece un accurato studio batteriologico in confronto con prodotti analoghi, ma non sospetti e trovò che mentre questi ultimi non contenevano il *Proteus vulgaris*, quello tossico ne era invaso.

Il consumo di salciccia di bue determinò disturbi gastro-intestinali di breve durata in 81 soldati. Pfuhr ⁷⁾ che esaminò la salciccia, considerando che non vi si trovavano sostanze tossiche, nè minerali, nè organiche, alle quali poter attribuire i fenomeni morbosi presentati dalle persone, non esitò ad attribuire importanza al *Proteus mirabilis* disvelato nell'alimento sospetto e dimostrato sperimentalmente patogeno.

Analogha epidemia, pure consecutiva a consumo di salciccia di bue è riferita da Schumburg, ⁸⁾ il quale riscontrò nella carne un *Proteus* virulento.

In tutti questi casi dunque compreso il mio, siamo in presenza di carne che ha derminato fenomeni morbosi e contenente il *Proteus*. Tale rilievo non avrebbe a rigor di termini grande importanza, se non intervenissero ad attribuirgliela altre circostanze. Sappiamo infatti che i microrganismi appartenenti al gruppo *Proteus* sono molto diffusi e rappresentano perciò un reperto non infrequente nell'esame batteriologico delle sostanze alimentari, specie di quelle che con maggiore facilità vanno soggette ad alterarsi; reperto non raro poi anche quando il processo putrefattivo (se pure possiamo allora parlare di putrefazione) è tanto all'inizio, da

non riuscire a riconoscerlo nè dai caratteri organolettici dell'alimento, che si presentano anzi eccellenti, nè mediante ricerche chimiche semplici, quale la reazione di Eber. Se non che, mentre quando il *Proteus* rappresenta veramente un saprofito banale e di nessuna importanza, non è virulento, nel caso mio e negli altri citati, le cose vanno ben diversamente. Esso è risultato incontestabilmente patogeno e tossico e questa duplice estrinsecazione della sua attività si è manifestata anche quando l'organismo animale venne aggredito per la via digerente. Non è possibile dunque non riconoscere che qui si tratta in realtà di microrganismi ben diversi dai corrispondenti ordinari e banali e che si deve loro attribuire una notevole importanza.

Come è giunto il *Proteus* nella carne? Sebbene non vi sia dubbio per alcuni che esso possa determinare processi morbosi nell'uomo e negli animali, non ritengo che si sarebbe nel giusto, nel mio caso, ammettendone l'esistenza, già durante la vita, nell'organismo dell'animale da cui la carne proveniva, poichè si sarebbe dovuto riscontrare una alterazione della carne stessa marcata e facilmente rilevabile, mentre, ripeto, non era possibile notare alterazione di sorta. Esclusa così la preesistenza del germe nell'organismo vivo, ne deriva che esso è pervenuto nella carne dopo l'uccisione dell'animale e precisamente, a quanto ritengo, durante le manipolazioni. Il *Proteus* è un germe di una certa resistenza e ad ogni modo, trattandosi di carne conservata cruda, ha potuto mantenersi e forse anche prosperarvi.

* * *

In rapporto ai punti essenziali di questo lavoro, possiamo pertanto trarre come riassunto le seguenti conclusioni:

1 - « Da vari campioni di carne insaccata si isolano esclusivamente due batteri, dei quali l'uno appartiene al *B. mesentericus vulgatus*, l'altro si riconosce in modo assoluto appartenere al gruppo del *Proteus* e da identificare col *Proteus vulgaris*.

2 - « Questi due batteri sono molto diffusi in natura e per conseguenza rappresentano un reperto piuttosto frequente negli esami batteriologici, specie di sostanze alimentari. Però l'uno rientra in un gruppo non ritenuto, nè

« mai sospettato patogeno, l'altro invece (il *Proteus*) non è
« sempre patogeno, ma talvolta si è trovato in condizioni e
« con proprietà tali, da dover con molto fondamento sospet-
« tarlo, o ritenerlo addirittura dimostrato patogeno per gli
« animali e per l'uomo.

3 - « Nel caso presente il *Proteus* è risultato patogeno
« pel coniglio, la cavia, i muridi, il gatto e non pel cane e
« pel piccione. È risultato inoltre capace di spiegare una
« azione tossica per gli animali sia mediante i filtrati sterili
« delle culture, sia mediante le culture uccise.

4 - « Il quadro clinico e l'anatomopatologico riman-
« gono invariati nei loro caratteri fondamentali, qualunque
« sia la via di introduzione nell'organismo delle culture vive
« o dei prodotti tossici: via endovenosa, endoperitoneale,
« sottocutanea e ciò che è più interessante via digerente.

5 - « Le manifestazioni più apprezzabili del processo
« morboso sono a carico dell'apparato digerente.

6 - « Il quadro clinico e l'anatomopatologico provocati
« dalla pura intossicazione (con esclusione cioè del potere
« infettante a mezzo della filtrazione o della uccisione delle
« culture) corrispondono a quelli che si riscontrano negli ani-
« mali trattati con culture vive, la cui azione quindi è da
« considerarsi mista: tossica e infettiva. All'azione tossica
« è da riportarsi la forte ipotermia che si manifesta col pro-
« gressivo aggravamento dei sintomi morbosi fino alla morte,
« l'azione infettiva è rilevata dalla setticemia che costante-
« mente si riscontra, introducendo nell'organismo culture vive.

7 - « Da quanto precede risulta che i fenomeni tos-
« sici verificatisi negli individui che si erano alimentati colla
« carne insaccata sottoposta ad esame, sono colla massima
« probabilità, se non con piena certezza, da riportarsi al
« *Proteus* da essa isolato ».

Roma, Settembre 1911.



BIBLIOGRAFIA

- 1) M. PERGOLA - *Atti della R. Accademia dei Fisiocritici in Siena* (N. 8-10, 1909) - *Centralb. f. Bakt. ecc.* (Bd. 54, 1910).
- 2) SEMENOWICZ E MARZINOWJKY - *Manuale di microscopia e batteriologia dell'Abba* (pag. 210).
- 3) LÉVY - *Arch. f. experim. Pathologie und Pharmacologie* (Bd. 34, 1894).
- 4) WESENBERG - *Zeitsch. f. Hyg. ecc.* (Bd. 28, 1898).
- 5) GLÜCKSMANN - *Centralb. f. Bakt. ecc.* (Bd. 25, 1899).
- 6) SILBERSCHMIDT - *Zeitsch. f. Hyg. ecc.* (Bd. 30, 1899).
- 7) PFUCH - *Zeitsch. f. Hyg. ecc.* (Bd. 35, 1900).
- 8) SCHUMBURG - *Zeitsch. f. Hyg. ecc.* (Bd. 41, 1902).

