



F. VICENTINI

Ms. F. 28.96

Nuovi studii batteriologici

SUGLI SPUTI,

SULLA MORFOLOGIA E BIOLOGIA

DE' MICROBI BOCCALI

MEMORIA

presentata alla R. Accademia Medico-Chirurgica di Napoli

CON UNA TAVOLA A COLORI.

Estratto dagli Atti, Tomo XLIV



NAPOLI

Stabilimento Tipografico A. Tocco e C.

S. Pietro a Majella, 31.

1892.



F. VICENTINI

Nuovi studii batteriologici

SUGLI SPUTI,

SULLA MORFOLOGIA E BIOLOGIA

DEI MICROBI BOCCALI

(Sèguito alla memoria *sugli sputi della pertosse*)

MEMORIA

presentata alla R. Accademia Medico-Chirurgica di Napoli

Con una tavola a colori.



NAPOLI

Stabilimento Tipografico A. Tocco e C.

S. Pietro a Majella, 31.

1892.

*Chi
B
28.26*



Ancora de' batterii e bacilli reperibili negli espettorati e delle loro attinenze col *leptothrix buccalis*, dedotte da osservazioni originali sulla morfologia e biologia di questo parassita, principalmente sulle sue fasi superiori, ora per la prima volta indagate e descritte.

(Sèguito alla Memoria sugli sputi della pertosse, inserita nel tomo XLIII degli Atti accademici)

pel socio corrispondente F. VICENTINI

“ Il modo di riproduzione e i corpi ri-
 “ produttori del *leptothrix* non sono co-
 “ nosciuti; ma forse si scopriranno con
 “ più attento studio; la qual supposi-
 “ zione è fondata sul fatto che nell'in-
 “ terno de' filamenti, ad un ingrandi-
 “ mento di 800 diametri, si veggono
 “ piccoli corpi rotondi, che forse po-
 “ trebbero essere spore „.

ROBIN

SOMMARIO

- § 1.º Ancora de' batterii e bacilli reperibili negli espettorati e nel contenuto boccale—Richiamo del lavoro precedente—Alcune forme di batterii non descritte nel lavoro precedente—Altre forme di bacilli *ut supra*.
- § 2.º Argomento del presente studio e tecnica de' lavori—Raccolta e preparazione degli espettorati—Raccolta e preparazione del contenuto boccale.
- § 3.º Nozioni finqui acquisite sui microorganismi della cavità boccale, secondo il Miller — Storia e generalità — *Leptothrix buccalis* (*leptothrix innominata* del M.)—Altri microorganismi primarii della bocca—Microorganismi secondarii—Funghi boccali patogeni.
- § 4.º Nostre osservazioni sulla morfologia e biologia del *leptothrix buccalis*—Le quattro fasi del *leptothrix*, segnatamente la fruttificazione a *spighe*—Produzioni a *punte* (*organi copulatori*?)—Fruttificazione a *spighe* riprodotta nell' espettorato — Disseminazione de' microbi sopradescritti negli organi retrostanti.

Riepilogo.

Bibliografia.

§ 1.º

*Ancora de' batterii e bacilli reperibili negli espettorati
e nel contenuto boccale.*

RICHIAMO DEL LAVORO PRECEDENTE

Nella tornata del 25 novembre 1888, avemmo l'onore di presentare a questa illustre Accademia una memoria sugli *sputi della pertosse*, nella quale ci occorre di trattare incidentalmente degli sputi anche d'altra natura. Ora non è nostro intendimento tornare su tutte le quistioni ivi trattate, ma sulla sola parte batteriologica. Le nuove osservazioni riflettono tutti i batterii e bacilli reperibili, tanto negli espettorati fisiologici, quanto in quelli de'varii stati morbosì, non esclusi i così detti bacilli tubercolari; bene inteso che di varie quistioni speciali, attinenti a questi ultimi bacilli, dovremo intrattenerci di proposito in altra occasione, non potendolo far qui con la debita ampiezza.

Circoscrivendoci allo studio batteriologico degli sputi, cominceremo dal richiamare brevissimamente le conclusioni a questo proposito formulate nel lavoro precedente. Ma, siccome i due lavori si chiariscono e si completano a vicenda, preghiamo quelli che vorranno seguirci, a tener presente anche la prima memoria, quantunque nella fig. 1ª della tavola qui annessa, si trovino riprodotti i tipi di batterii e bacilli già delineati nella fig. 2ª della tavola precedente.

« I batterii reperibili negli sputi in generale, e negli sputi della pertosse in particolare (scrivevamo nel riepilogo), derivano, secondo ogni probabilità, da germi provenienti dalla bocca o dal naso; per modo che attualmente (e fino a prova indiscutibile in contrario), la loro presenza è da ritenere come un fatto naturalissimo, che nulla ha da vedere con la causa della malattia. Tali batterii, quantunque di forme svariatissime, si possono ridurre a due soli tipi, de' quali rappresenterebbero altrettante fasi o forme di transizione. Un gruppo si può identificare col *bacterium termo* e l'altro col *leptothrix*; ma probabilmente questi due gruppi, anch'essi, appartengono in fondo ad una specie unica. »

E altrove: « Riassumendo le note de'varii tipi, possiamo concludere che le tante forme di batterii delineate nella nostra tavola, insieme alle altre semplicemente accennate nel testo, si possono ridurre a due sole specie: il *bacterium termo* e il *leptothrix*. Al

bacterium termo si rapporterebbero le forme *a*, *b*, *c* (sopra, fig. 1^a della tavola annessa), *d*, *e*, *f*, *f'*, *g*, *i*, *k*, *l*, *l'*, *p* e *p'*; al *leptothrix* le forme *b'*, *c* (sotto), *m*, *n*, *n'*, *o* (a sinistra), *q*, *r*, *s*, *u*, *v'*, *x*, *x'*, *y* e *z*. Ma non è improbabile che, a loro volta, le due specie predette ne formino una sola, secondo il Cohn, il Naegeli, il De Bary ed altri autori, i quali ritennero il batterio rotondo (*monas crepusculum*), il *bacterium termo* e il *leptothrix*, come tre forme o periodi di sviluppo di una sola e medesima specie. Noi anzi propendiamo a credere che anche le forme conosciute sotto i nomi di *vibrio rugula*, *clostrio* e *rabdomonade* si possano riferire alla specie medesima, come tre altre semplici varietà delle sue forme bacillari. »

Per noi tali conclusioni si fondavano sopra indizii indiretti, principalmente su taluni caratteri morfologici, comuni o di transizione, sulle sedi di predilezione, ecc. Ora, avendo proseguito in questo ordine di ricerche durante gli ultimi due anni, stimiamo poter dare (ciò che allora ci parve prematuro) una dimostrazione diretta di tale assunto, additando per dir così, la chiave del polymorfismo de'varii microbi ospitanti negli espettorati.

Di più, nella memoria precedente, per ragione di brevità, furono trasandati diversi tipi di batterii e bacilli, che ora è mestieri venir descrivendo succintamente, insieme ad altri esemplari desunti da posteriori osservazioni (1).

ALCUNE FORME DI BATTERII NON DESCRITTE NEL LAVORO PRECEDENTE (fig. 2.^a)

Tutte le forme di batterii e bacilli descritte qui appresso (fig. 2.^a e 3.^a) sono colorate col violetto di genziana, tranne il filamento o bacillo serpentino *h'* (fig. 3.^a), colorato con la soluzione iodica.

(1) Giacchè siamo a riparlare della pertosse, a sèguito delle relative notizie bibliografiche, ricordiamo, tra le pubblicazioni posteriori, un articolo del Mircoli, sulle alterazioni renali nella pertosse (Arch. p. le sc. mediche, 1890, pag. 63 e segg.) Il Mircoli inoculò senza effetto le colture di batterii, presi dal laringe di bambini morti di pertosse, nel laringe o sotto la cute de' conigli. Lo stesso menziona un articolo del Sseurtschenho, e un altro del Wendt, a conferma delle osservazioni dell'Afanasieff. Nel *Journ. of micr. a. n. s. edited by Allen and Spiers (january 1890)* troviamo una lettura fatta dal Shingleton-Smith alla società microscopica di Bristol (*Some recent developments of the doctrine of a contagium vivum*), dove (a pag. 32) è detto che *non è provata l'efficienza di determinati microorganismi nella più parte delle malattie infettive, nominatamente nelle più comuni malattie infantili, rosolia, pertosse e scarlattina.*

a) Nella memoria precedente ritenemmo che i diplococchi arcuati de' tipi *g*, *l*, *p* (fig. 1^a), morfologicamente identici ai così detti *gonococchi* del Neisser, non fossero mai circondati da un'apparenza di capsula: e questo è vero nella più parte de' casi. Ma da osservazioni posteriori ci risulta che vi sono delle eccezioni a questa regola generale, come lo dimostra ora la fig. 2^a *a*, sotto l'amplificazione di 690 diametri. Veramente qui i diplococchi arcuati sono interpolati a batterii dritti, allineati di traverso, ed inclusi in un alone unico, piuttosto ampio che tutti li abbraccia. Esempolari consimili li riscontrammo la prima volta nello sputo denso, opaco, giallastro, di una bambina di mesi 17, affetta da pertosse, nel dicembre del 1889, al settimo giorno dalla emissione dello sputo. C'era, in questo, un discreto numero di corpuscoli rossi del sangue, con pochi epitelii ellissoidali e pochi granuli mielinici, in mezzo a moltissimi de' comuni batterii e bacilli. Ma in seguito abbiamo accidentalmente riscontrati degli esemplari consimili anche nelle urine. E ciò non deve sorprenderci, poichè il semenzaio de' microbi reperibili ne' prodotti delle vie urinarie o nello sperma, è, a senso nostro, il medesimo di quello de' microbi vegetanti negli sputi, proveniente cioè da un medesimo parassita, il *leptothrix*, il quale vegeta tanto nella bocca, quanto sulle vie genito-urinarie esterne, come avremo occasione di rifermare in seguito.

Nel paragrafo terzo diremo anche dell'analogia fra questo tipo di batterii e il *jodococcus vaginatus* del Miller.

Ma, oltre questi diplococchi arcuati, misti in serie a batterii dritti, in alone comune, se ne rinvennero altri appaiati soltanto ed inclusi in un alone per coppia (sebbene eccezionalmente) nella patina dentaria, intorno ai ricchi coacervi di diplococchi. La loro apparenza capsulare si rende spiccata, mercè la colorazione all'ac. picrico, con successiva imbibizione nella glicerina.

b, *b'*) Questo esemplare (ingrandimento di 1750 d.) è preso dalla patina dentaria mista a saliva; vi si veggono de' gruppi di diplococchi, grandi e mezzani, inframezzati a delle coroncine stivate (di piccolissimi cocci), morfologicamente identiche alle coroncine del tipo *s* (fig. 1^a). Di siffatti esemplari se ne incontrano a dozzina, insieme con diplococchi dall'apparenza capsulare del tipo *l'* (medesima figura) riprodotto in *b'* (fig. 2^a). E di questi diplococchi ve ne ha di due dimensioni; cioè de' grandi o mezzani del tipo *l'* (fig. 1^a), ed altri similmente circondati da un alone chiaro, ma piccoli o minuti, come in *b'* (fig. 2^a a destra). I piccoli cocci inclusi in *b'* non differiscono sensibilmente da quelli delle coroncine, salvo per l'alone che li circonda. Abbiamo notato che

questi minuti diplococchi sono i più pesanti, poichè si trovano a preferenza sul portaoggetti, mentre i diplococchi grandi e mezzani si portano più volentieri verso il coprioggetti.

Ora l'esemplare delineato in *b* dimostra che delle coroncine morfologicamente identiche ai bacilli del Koch si rinvencono nella patina dentaria, come in altri sostrati solidi o stagnanti, ad esempio entro gli epiteli boccali, o nel segreto morbosissimo stagnante, sia nelle cripte laringee, sia ne' focolai tubercolari; in quanto la immobilità del terreno favorisce la moltiplicazione de' piccoli cocchi in serie lineare e la loro disposizione a formare prima delle coroncine, poi de' bastoncini o de' filamenti, come avemmo già a dire nella memoria sulla pertosse.

In secondo luogo questo esemplare fa presumere una stretta affinità fra i detti bacilli a coroncine, o cocchi minuti, e i diplococchi, tanto del cavo boccale, quanto di altra sede; altrimenti non si comprenderebbe come si potessero trovare insieme stivati, in sembianza di *frutti caduti dallo stesso albero*. E questo vedremo essere precisamente il caso.

Un altro esempio della tendenza di tali cocchi minuti ad addossarsi ai diplococchi, lo si osserva anche in *i*, come or ora vedremo.

c) Le coppie di batterii a manipoli, rappresentate qui all'ingrandimento di 2500 d. sono tolte dal muco nasale, nello stato normale. Esse, come si vede, in nulla differiscono dagli ordinarii batterii a manipoli e dalle loro catene, reperibili negli espettorati, sui tipi *c*, *d*, *e* (fig. 1^a), che richiamano la forma e le dimensioni del *bacterium termo*.

È incredibile la quantità di siffatti batterii, quando si esamini il muco nasale, non già in condizioni di molta fluidità, come ad esempio nella corizza, ma quando esso è scarso, denso, a naso, per così dire, asciutto. In tai casi riesce bene spesso inutile far soffiare il naso; conviene piuttosto andare a prendere un po' di muco entro le fosse nasali, roteandovi la punta d'una bacchettina di vetro. Se poi, soffiando il naso, si ha una minuta particella di muco, fa lo stesso.

Vedremo in seguito che siffatti batterii a manipoli sono quelli che paiono più disposti a formar catene; certo sono essi appunto che costituiscono i cospicui e mirabili fasci di catenule (del tipo *c*, fig. 1^a) che si trovano, come vedremo, in sì gran copia sul dorso della lingua. E la ragione n'è chiara. Seguendo, infatti, l'ordine delle nostre vedute, ognuno di tai manipoli sarebbe il risultato del saldamento di due cocchi rotondi fra loro, sarebbe in altri termini un diplococco con le capocchie saldate insieme: ragione per la quale

lo si trova talora invaginato in aloni, sia dentro, sia fuori degli epiteli, e sieno questi epiteli boccali, ovvero sieno epiteli nasali od uretrali. La stessa tendenza adesiva che ne salda le due parti originarie, giova quindi a concatenarli fra loro, in catenule e in fasci, donde poi (in terreni ancora più saldi) germineranno le cepaie di *leptothrix*, come sarà detto a suo luogo.

Rimandiamo alla memoria precedente per le altre forme di batterii e bacilli del muco nasale, tutte più o meno sicuramente riferibili al *leptothrix*. Solo ci resta a notare, a proposito del muco nasale, che i suoi epiteli pavimentosi sono un po' più piccoli degli epiteli boccali omonimi, e sono meno rammolliti o disfatti, forse perchè esenti dall'azione dissolvvente della saliva. Essi però sono investiti o addirittura invasi da batterii, allo stesso modo che gli epiteli boccali.

I batterii del muco uretrale (preso direttamente dal meato con una bacchettina) assumono anche volentieri l'aspetto di manipoli, e invadono similmente gli epiteli pavimentosi di questo canale; però, nello scolo blenorragico, il più sovente, si riscontrano de'diplococchi, taluni anche cinti di alone, ma piuttosto piccoli, parte liberi, parte entro gli epiteli pavimentosi, parte inclusi ne' corpuscoli di pus. È questo il reperto più frequente, secondo che abbiamo osservato; il reperto de' diplococchi arcuati o *gonococchi* del Neisser essendo comparativamente raro. Oltre queste morfe più comuni, vi si riscontrano eziandio de' cocci minutissimi, non dissimili da quelli che costituiscono le coroncine del tipo *s* (fig. 1^a) o del tipo *b* (fig. 2^a), e de' filamenti o articoli corti di *leptothrix*.

d, e) Dicevamo nella memoria precedente che le diverse forme e apparenze de' così detti *pneumococchi* (del Friedländer, del Fraenkel, ecc.) probabilmente dipendevano dal vario grado di colorabilità di questa o quella porzione de' loro singoli articoli, o da modificazioni di forma. I tipi *d* ed *e* qui segnati sono un esempio del primo genere.

In *d* (fig. 2^a, ingrandimento di 2500 d.) si veggono tre diplococchi ad alone, parzialmente colorati. In quello a sinistra sono più colorate due semilune interne; in quello di mezzo una semiluna da un capo e dall'altro un doppio arco, e d' ambe le parti un nucleo più colorato; nell'esemplare di destra vi è una delle capocchie con tre punti più colorati, l'altra con due, ed una linea di colorazione verso l'altro estremo. In certe pulmoniti siffatti esemplari si trovano in numero discreto, misti fra loro, nello stesso gruppo o coacervo.

In *e* (medesimo ingrandimento) i diplococchi sono invece privi

di alone, e presentano de'punti di colorazione parziale di vario aspetto. Tali esemplari sono presi da uno stesso sputo pulmonitico, nel quale si rinvennero eziandio pneumococchi de' tipi seguenti, *f*, *g*, *h*, *i*, *i'*, per tacere delle altre svariatissime forme di batterii e bacilli.

f, *f'*, *g*) Esempii del secondo genere sono questi altri tipi (meno *f''*), tolti parimenti da uno stesso sputo, in una pulmonite crupale dell'apice. In *f* (ingrandimento di 1750 d.) le apparenze capsulari sono veramente classiche e ben contornate, da simulare una vera membrana capsulare. I singoli pneumococchi sono talora assemblati in piccoli gruppi di otto, dieci, quattordici. Gli articoli interni e con essi gli aloni sono allungati e appuntati all'estremità; ma ve n'è qualcuno anche rotondo.

In *f'* (medesimo ingrandimento) gli articoli sono anche acuminati, ma privi di alone e molto pallidi a principio; ma ne' giorni seguenti si vengono lentamente colorando entro il preparato, se lo si mantiene artificialmente umido, al modo indicato già nella prima memoria. Siffatti diplococchi pallidi e sprovvisti di alone esibivano tutte le apparenze di una condizione di attiva germinazione, poichè molti se ne vedevano anche più minuti e proporzionalmente più pallidi, altri composti di due cocchi disuguali, parecchi di loro agitantisi nel veicolo. Invece le forme cinte di alone sono più stabili o meno attive, come se la capsula indicasse una condizione di quiescenza del microbo. Se questo, infatti, si muove, è solo per moto traslatorio, senza punto agitarsi come fanno i batterii in attiva germinazione (1).

Giacchè siamo su questo argomento, è parso a noi che la capsula, tra per la sua molta rifrangenza (di cui nella memoria precedente) e tra per la difficoltà o impossibilità che incontrano i corpicciuoli vicini, quando sono sospinti ad attraversarla (vedi sotto); la capsula, diciamo, si assomigli ad un trasudamento di sostanza grassa che circonda il microbo o promani direttamente da esso. Certo la capsula o alone in discorso, nella pipparte de' casi, arieggia molto davvicino gli aloni analoghi che si veggono intorno alle goccioline oleose, reperibili in taluni preparati, anche colorati. Ma questa, bene inteso, non è che una semplice congettura.

In *g* (ingrandimento di 2500 d.) è ritratto un diplococco conspicuo, ma con gli articoli interni di figura quasi cilindrica, con

(1) In un recente lavoro, il Billet ha riscontrata questa forma a *diplococchi incapsulati*, come una fase di vita, comune a parecchie specie batteriacee: fase che egli denomina *stato zooglico* (v. la nota in fine al § 3°).

capsula molto larga, e alquanto irregolare o come gibbosa da un lato, il quale richiama il bacillo monoarticolato del tipo *q* (fig. 1^a). L'alone all'intorno accennerebbe anche qui ad uno stato di quiescenza del microbo e alla conseguente escrezione di sostanza pallida. Altri potrà ravvisarvi una certa analogia col così detto *bacillus crassus sputigenus* del Kreibhom (v. paragrafo terzo).

h) Insieme ai diplococchi *e*, *f*', si trovano alle volte nello sputo pulmonitico queste altre forme prive di alone (ingrandimento di 2500 d.). In una di esse la fase di accrescimento si rileva, guardando l'articolo appuntato all'estremità, a destra, pallido, come in *f*. La porzione allungata, come le due parti dell'altro diplococco (o bacillo monoarticolato che dir si voglia), è piuttosto vivamente colorata, e, in buone condizioni d'illuminazione, mostra delle punteggiature interne, di tinta anche più carica, massime verso gli orli: circostanza notevole, che, a nostro modo di vedere, li ravvicina agli articoli del *leptothrix*, ne quali ritroveremo appunto di queste punteggiature o future *gemmule*.

Le forme predette s'incontrano piuttosto nel secondo periodo delle pulmoniti, dopo la defervescenza della febbre; ma possono incontrarsi anche in numero grandissimo, invaginate in lunghi aloni, nel periodo ulteriore, ad esempio nella terza settimana. E questi pneumococchi a lunghe guaine sono quelli che ritengono con maggior tenacità il violetto di genziana, da resistere anche ad una doppia decolorazione con l'ac. nitrico e con l'alcool, come indicammo nello studio sulla pertosse.

Parecchie delle indicate forme di pneumococchi, segnatamente *d*, *e*, *f*, *f'*, *h*, collimano con quelle delineate da Cornil e Babes nella tav. XV, fig. 1^a, 4^a, 6^a e 13^a (opera citata nell'appendice bibliografica).

i, *i'*) Il grosso diplococco tondeggiante *i* col rispettivo alone (ingrandimento di 2500 d.) fu rinvenuto pure nella pulmonite al secondo periodo. I suoi due articoli somigliano a due emisferi disgiunti; e intorno all'alone si veggono addossati de' minutissimi cocchi, nessuno de' quali ha potuto penetrare nella zona chiara: fatto sul quale abbiamo già chiamata l'attenzione e che, a nostro avviso, dimostra la pienezza dell'alone e che questo non è una specie di vacuolo.

In *i'* (medesimo ingrandimento) vi è una catenula, i cui articoli rappresentano una serie di diplococchi consimili, collegati in modo che un emisfero dell'uno aderisce al contiguo emisfero di un altro, rimanendo uno spazio chiaro tra gli emisferi di ciascun diplococco. Di tali catenule, riunite talora in piccoli gruppi, se ne trovano, quantunque in piccol numero, negli stessi sputi pneumo-

nici, ora nude, ora inguainate ne' residui de' primitivi aloni, che si disegnano in punta e ai due margini, come nella nostra figura.

ALTRE FORME DI BACILLI *ut supra* (fig. 3^a)

Alcune forme di transizione de' bacilli furono tralasciate per manco di spazio nel lavoro precedente; altre furono raccolte posteriormente, ed ora veniamo a darne un rapido cenno. Le nuove forme, aggiunte alle prime, varranno a far viemmeglio palese la identità de' bacilli degli espettorati con gli articoli o frammenti dei filamenti di *leptothrix*, vegetanti nella bocca.

Nella memoria precedente il bacillo *n'* (fig. 1^a) rappresentava una forma di transizione dalle giovani forme bacillari, *n, n, n*, alle forme mature, *m, m*. Accennammo fin d'allora ad altre forme di transizione, ed ora veniamo a descriverle.

a, b, c) In *a* (fig. 3^a ingrandimento di 1250 d.) si vede un bacillo che partecipa a tre tipi distinti, diviso cioè in tre segmenti: l'uno occupato internamente da quattro batterii ellissoidali, il segmento mediano chiaro, debolmente colorato, l'altro invece fortemente colorato ed opaco. Il che dimostra che i bacilli chiari al di dentro, e quelli contenenti batterii, e gli opachi del tutto, non sono riferibili a specie diverse. Questo bacillo fu improntato da un espettorato della così detta *influenza*; ma se ne trovano de' consimili anche in altri sputi e nella saliva.

Altra prova analoga si ha in *b* (medesimo ingrandimento), dove un bacillo opaco per 5/6 della sua lunghezza, presenta l'altro sesto chiaro e debolmente colorato. Questo esemplare fu preso dalla saliva.

In *c* (medesimo ingrandimento) s'incontrano quattro tipi, cioè un breve segmento chiaro in alto, e in punta di questo un batterio ellittico in formazione; poi nel mezzo un lungo segmento opaco, e in basso un segmento pallido, granuloso, come il tratto mediano del tipo *n'* (fig. 1^a) e come i tipi *e, e'* (fig. 3^a). Anche questo esemplare fu preso dalla saliva.

d) Questo bacillo corto e grosso, preso dalla patina dentaria (ingrandimento di 2500 d.), presenta la metà superiore opaca e fortemente colorata; l'altra metà è divisa in due segmenti; il segmento mediano, brevissimo, chiaro, contiene un grosso batterio a manipo'lo, situato di traverso; l'inferiore è opaco, ma non nella totalità, essendovi a destra una lacuna chiara, fra la parte opaca e il contorno esterno, e la parte opaca presenta come una dentellatura irregolare. Altre svariate forme di tali dentellature e lacune

si riscontrano in molti altri bacilli, tanto verso gli orli, quanto, più sovente, in corrispondenza de' nodi, ossia di que' sepimenti o giunture che, ne' filamenti o bacilli articolati, stanno fra i singoli membri.

Quanto al batterio incluso poi, non è a dubitare della sua posizione interna alla guaina del bacillo, sia per l'aspetto dell'esemplare, sia perchè ne' movimenti di oscillazione impressi al preparato, il batterio non si scostava dal bacillo, nè gli ruotava d'intorno, come avviene de' corpicciuoli sovrapposti o aderenti a checcchessia. D'altronde, ne' prece'tenti esemplari, si hanno tante altre inclusioni consimili, che questa in parola non deve sorprenderci. Tuttavia l'esemplare che ci occupa suggerisce alcune considerazioni che non ci paiono da tralasciare.

E in prima esso dimostra che non solo i batterii ellittici, o i minutissimi e lineari, ma anche quelli a manipoli possono trovarsi inclusi nella guaina de' bacilli; il che mena a concludere che, fra detti batterii a manipoli e i bacilli, non vi sia differenza specifica. E poichè le catenule e i fasci, aderenti segnatamente alla lingua, sono (come vedremo in seguito) nella gran maggioranza composti di batterii a manipoli, ne dobbiamo inferire la identità di dette catenule co' bacilli e, per conseguenza, di entrambi col *leptothrix*.

In secondo luogo, raffrontando i diversi esemplari di bacilli (come *a* e *d*) contenenti batterii, co' filamenti fertili del *leptothrix* che saranno descritti più oltre, troviamo in questi filamenti una disposizione variabile de' granuli interni o *gemmule di riserva* aderenti alla guaina. Alcune di esse *gemmule* sono alternate, altre al medesimo livello da' due lati. Ora, immaginiamo che, ne' filamenti fertili invecchiati, le *gemmule* crescano verso la linea mediana del fusto; potrà avvenirne delle due l'una. Quando, poniamo, la *gemmula* di sinistra è più in alto di quella di destra, i batterii, risultanti dal loro accrescimento, si disporranno longitudinalmente, gli uni sugli altri, ed assumeranno la forma ellittica, come nel bacillo *a*. Ma se le due *gemmule* invece sono allo stesso livello, avremo il caso del bacillo *d*: i due cocci, cioè, risultanti dall'incremento delle *gemmule*, verranno ad incontrarsi nel centro del fusto, e quivi saldandosi fra loro, ci daranno il batterio a manipolo in giacitura trasversale.

Sicchè, dovunque ci volgiamo, tutto viene a ribadire il concetto del polimorfismo de' microbi ospitanti negli espettorati e della loro probabile derivazione da un'unica specie.

e, e') Il bacillo delineato in *e* (fig. 3^a ingrandimento di 1750 d.) fu rinvenuto nello sputo d'una giovane puerpera, affetta da bronchite, insieme con altri consimili bacilli granulosi, chiari, egual-

mente lunghi o più corti, ma più esili, come si vede in *f*. Tai bacilli, del resto, sono comuni anche in altri sputi e nel contenuto boccale; presentano un contenuto pallido, granuloso, simile a quello che occupa in parte i bacilli *n'* (fig. 1^a) e *c* (fig. 3^a); presentano inoltre delle *gemmule* o granuli interni parietali, in varii punti, ma più piccoli e più pallidi di quelli che troveremo ne' singoli articoli de' filamenti fertili di *leptothrix*.

In *e* gli estremi sono appuntati; ma in *e'* (medesimo ingrandimento) sono rotondi. Il più grande de' due è colorato piuttosto vivamente, ma presenta verso l'uno de' capi un interspazio chiaro, come lo si è veduto in *a* e in *d*. L'altro esemplare, più piccolo e più pallido, rappresenta, a quanto pare, una forma più giovane dello stesso tipo. Questi ultimi due bacilli furono riscontrati in uno sputo pulmonitico lievemente rugginoso, ma si riscontrano anche essi nel contenuto boccale o in altri sputi.

Ne' preparati della patina dentaria non colorati, vi sono de' bacilli fusati analoghi al tipo *e*, ma molli, flessibili, leggermente venati per lo lungo, e dotati di movimenti vivaci, talora andando da una zolla all'altra e poi tornando al posto di prima (fig. 12^a *d*). Questi bacilli fusati sono originariamente impiantati su delle produzioni speciali, che noi abbiamo osservate per la prima volta, e che denomineremo produzioni a *punte* (v. oltre); e vi si trovano impiantati insieme con delle punte più esili, che poi formano i bacilli *f*, *h*, ed *h'*, de' quali veniamo a parlare.

f, *g*, *h*, *h'*) Gli esilissimi bacilli *f*, *g* (ingrandimento di 2500 d.) sono tolti parimenti da un caso di pulmonite. In *f*, superiormente, si vede un bacillo monoarticolato, fortemente colorato; inferiormente un bacillo delle stesse dimensioni, ma tutto d'un pezzo, pallido e granuloso. In *g* si vede un bacillo, esilissimo anch'esso, che risulta d'una porzione mediana opaca e fortemente colorata, e di due porzioni estreme, pallide, le quali accennano a recente distacco da un filamento più lungo.

Confrontando questi esemplari, tolti da un espettorato pulmonitico, co' filamenti più esili di *leptothrix*, non apparisce tra loro alcuna sensibile differenza.

In *h* (medesimo ingrandimento, colorazione col violetto di genziana) si vede un esemplare di bacillo arcuato, a foggia di punto interrogativo, piuttosto pallido, segnatamente in punta, preso similmente da uno sputo pulmonitico. I bacilli di questo tipo sono frequenti in diversi sputi, copiosissimi ne' preparati della patina dentaria, poco colorabili a fresco, e si rinvencono a preferenza negli spazii chiari occupati dal veicolo. Sono quasi sempre agitati da più

attivi movimenti vitali, in vari sensi, anche da moti parzialmente serpentini o di succhiello. I caratteri di questo microbo rispondono esattamente a quelli dello *spirillum sputigenum* del Miller o del *comma bacillus* descritto dal Lewis nella saliva, come identico al *bacillo virgola* o bacillo colerigeno del Koch (1).

Noi però troviamo la maggior somiglianza tra questi bacilli e le *punte* minori, stivate in gran numero su certi filamenti di *leptothrix*, come vedremo a suo luogo. La grandezza delle punte varia, da quella del bacillo *h* a quella del bacillo *e*; ma tutte sono dotate di movimenti vivaci, cadute che sieno dagli steli su cui si trovavano originariamente impiantate (fig. 12^a). Agiteremo più oltre la quistione: se tai bacilli compiano un ufficio analogo a quello dei filamenti copulatori (*spermazii* o *anterozoidi*) di molte crittogame, quantunque, nel *leptothrix*, non sieno originariamente contenuti in appositi ricettacoli (*spermogonii* o *anteroidi*). Nella ipotesi più lontana, resta anche a vedere se non rappresentino anche de' giovani spirilli, o se, in altri termini, gli spirilli non derivino da tai filamenti, dotati di pressochè identici movimenti. Veramente ci sembra più probabile che, almeno nella massima parte, gli spirilli derivino dalla frammentazione di certi fili o tratti contorti, sia fertili, sia invecchiati di *leptothrix*. I più fini di questi tratti sono alle volte più esili degli spirilli medesimi, come si vede quando alcuno di questi spirilli capita tra i filamenti in parola. Alle volte lo spirillo è più spesso ancora de' filamenti di *leptothrix*, come si vede nella fig. 1^a di Cornil e Babes, confrontando lo spirillo *m* col filamento *k* di *leptothrix*; ed anche nell' infuso di patate si veggono degli spirilli grandissimi, come notammo in una nostra comunicazione sulla febbre ricorrente (2).

Ma di ciò avremo a intrattenerci più oltre.

In *h'* si vede un altro filamento più grande, serpentino, con una specie di capitolo (medesimo ingrandimento, colorazione con la soluzione iodica), da noi rinvenuto nella patina de'denti, e che somiglia, in piccolo, un verò spermatozoide.

Ne' preparati non colorati della patina dentaria, si scorgono, come vedremo, i movimenti attivissimi e durevoli di tutte queste forme di bacilli fusati, virgolati e serpentini.

(1) Lewis, *A memorandum on the comma shaped bacillus*, ecc. V. Bibliografia.

(2) Cornil e Babes, *op. cit.* nella Bibliografia. — Vicentini, Sopra un caso di febbre ricorrente, ecc. e sul riscontro degli *spirilli* nel sangue, Memoria inserita nel tomo XXXVI degli Atti della R. Accademia medico chirurgica di Napoli, 1883.

Chiudiamo il paragrafo, notando anche una volta che tutte le descritte forme di bacilli, niuna esclusa, sono comuni al contenuto boccale ed agli espettorati. Il bacillo *h* è raro negli espettorati; i bacilli *a*, *b*, *c*, *d* sono più comuni nella patina de' denti che negli espettorati; il bacillo *n'* (fig. 1^a), improntato da un caso di pleurite, si rinviene agevolmente anche nelle rigogliose ceppaie di *leptothrix*.

§ 2.°

Argomento del presente studio e tecnica de' lavori.

ARGOMENTO

Dicemmo nel paragrafo quarto della memoria sulla pertosse, che le ricerche batteriologiche sugli espettorati non potranno assodarsi, se prima non sia, almeno in parte, accelerata la *storia naturale* de' microbi, patogeni o non patogeni, che vi ospitano: storia la quale è ancor tutta da fare. Ora ci accingiamo debolmente a un primo tentativo di questo genere.

Già con lo studio delle forme miste o di transizione de' batterii o bacilli (nel paragrafo quarto della memoria precedente e nel primo paragrafo della presente), abbiamo dovuto concludere alla grandissima probabilità di un tipo, sebbene indeterminato, di vegetazione unica, al quale tutte le indicate forme si apparterebbero. Ora ci faremo a dimostrare che questa vegetazione unica, divinata per via indiretta, esiste in realtà; che la si può cogliere in pieno sviluppo, tanto nella *patina de' denti*, quanto in *taluni espettorati* o in *taluni fiocchetti di muco uretrale*, e che le forme sparse, descritte finquà, non sono altro che frammenti, organi o fasi diverse di questa unica pianta.

Chi, per esempio, non avesse notizia alcuna delle piante fanerogame (supponiamolo, quantunque inverosimile sia la supposizione), e capitasse in una legnaia, al vedere le legna, i rami ammonticchiati, le foglie, ecc. potrebbe a bella prima supporre che quelli fossero tanti oggetti diversi, anzichè parti di un sol tutto. E se costui s'imbattesse in un'aia, dove fossero raccolte ed assortite le diverse parti del granturco, potrebbe giudicare similmente i fusti, le radici, le foglie, i pennacchi, le barbe, i grani, ecc. come oggetti diversi. Ma basterà menarlo nella foresta o nel campo perchè egli si avvegga dell'errore. Guardando tra i filari del granturco, egli troverà inoltre che la piuma delle piante (quelle di sesso femminile) sono guarnite di spighe; ma ne vedrà delle altre

più alte (quelle di sesso maschile), che non portano spiga di sorta, bensì il solo pennacchio. Egli allora supporrà che le piante di questo secondo tipo sieno per avventura di specie diversa dalle altre, non potendo immaginare affatto che il granturco sia una *pianta dioica*, coi due sessi distinti sopra individui diversi.

Ora è questo precisamente il caso che è intervenuto pe' microbi degli sputi.

Cominciamo dal dire sotto quali vedute fummo condotti alle nostre nuove indagini sulla morfologia e biologia del *leptothrix*.

La natura non fa cose inutili; quelle stesse parti che ora a noi paiono superflue negli organismi viventi, come (ad esempio) le mammelle nell'uomo, non sono che rare eccezioni.

Ora le figure che si son date del *leptothrix* contraddicono a questa legge. Si guardi, per esempio, nel Bizzozero la figura del *leptothrix buccalis*, riprodotta nella fig. 4^a della nostra tavola, e sorgerà spontanea la domanda: a che possono servire quegli stecchi eretti senza frutti, que' cespi somiglianti all'erbe tostate tuttodi dal dente del bestiame? Non accennerebbero essi piuttosto ad una futura fruttificazione, ad una fruttificazione venuta meno per violenze meccaniche?

Le figure che ne danno il Robin, il Frey, il Miller ed altri, non suggeriscono un giudizio diverso (1).

Furono queste le riflessioni che c'indussero a intraprendere direttamente lo studio di questo parassita. Le nostre ricerche verranno partitamente esposte nel paragrafo quarto; ora qui non faremo che darne come una sintesi anticipata, acciocchè il lettore sia man mano abilitato a connettere, non pure le cose già discorse, ma le altre, non meno in apparenza disparate, che verremo esponendo.

Il *leptothrix buccalis* dunque, se le nostre osservazioni sono esatte, vivrebbe sotto quattro forme, o in quattro stadii distinti di sviluppo, a seconda delle condizioni del sostrato alimentizio.

Ne' mestruì liquidi, come nella saliva e nel muco, i suoi *seminuli* o *spore* (i batterii e i cocci) e i suoi *polloni gemmiferi* (i bacilli propriamente detti, esclusi gli spirilli, i bacilli fusati e serpentini e le virgole) crescono e si moltiplicano, come le spore

(1) Bizzozero, Manuale cit. nella Bibliografia, tav. II, fig. 27^a — Robin, *Hist. nat. des végétaux* etc. 1853 (v. Bibliografia), tav. I, fig. 1^a e 2^a — Frey, figura riprodotta dal Perroncito, *op. cit.* nella Bibliografia, fig. 11^a — Miller, figure citate in seguito.

vaganti e i talli de'funghi. Sarebbe questa la *vegetazione immersa del leptothrix*.

I batterii, i fermenti e le spore in generale hanno il potere di riprodurre l'intero organismo, come i semi delle fanerogame; ma tra le spore o i batterii da una parte, e i semi delle fanerogame dall'altra, corre questa differenza, che i semi delle fanerogame non hanno il potere di moltiplicarsi per scissione, producendo nuovi semi; mentre le spore vaganti, i fermenti e i batterii si moltiplicano a dovizia, anche per conto proprio.

Se però il liquido è tenuto in una relativa immobilità, per ristagno, poniamo nelle cripte o nelle escavazioni, o se si tratta di terreno solido addirittura, come sul dorso della lingua, incomincia la seconda fase di vegetazione o *vegetazione terragna*; si formano, cioè, delle semplici coroncine, o delle catene e dei fasci, tanto cospicui nella patina della lingua. E questo avviene non solamente sulla lingua, ma sul prepuzio ed anche ne' segreti stantii. Però la vegetazione si ferma a questo punto, quando (come sulle mucose in generale) vi è continuo attrito, che impedisce l'ulteriore formazione (quella delle ceppaie). Avviene il medesimo sul prepuzio, dove inoltre manca l'azione irrorante della saliva. La mancata irrigazione della saliva deve ritenersi eziandio come impedimento alla vegetazione delle ceppaie nel naso, dove non pertanto i batterii sono moltiplicati in dovizia incredibile. Ne' segreti e ne' mocci la immobilità è soltanto relativa; ma se la immobilità diventi, per caso, effettiva, si formerà allora una ceppaia, ed anche una ceppaia fruttifera, come lo dimostra la fig. 14^a presa, nel modo che indicheremo a suo luogo, da uno sputo pulmonitico, rimasto aderente per vari giorni, in sottilissimo strato, alle pareti interne d'un tubo chiuso.

Terza fase, o ceppaia, è quella che s'impianta sui tessuti saldi, sulla lingua e sui denti. Però sulla lingua l'attrito è continuo, in guisa che le ceppaie non possono giungere alla quarta fase, che è quella della fruttificazione; ed anche sui denti avviene in molte parti lo stesso. Si hanno allora i cespugli, apparentemente infecondi, rappresentati nelle figure sopra indicate. Questo è il caso altresì de' ciuffi di *leptothrix* che si vedgono iniziati sulle squamette epiteliali, sugli avanzi di cibo o di altri corpuscoli sospesi nell'urina, negli sputi, ecc. formate. Possiamo definire come una *vegetazione aerea*, sebbene non completa.

Ma in molte parti della superficie dentaria, massime l'ave

l'attrito è minore, come tra dente e dente, o nel solco che separa il dente dalla gengiva, eccovi comparire da ultimo la quarta fase, la *vegetazione aerea completa*, ossia la fruttificazione: fase, a quanto sembra, totalmente ignorata e neppure sospettata finora, se dobbiamo giudicarne dal recentissimo lavoro del Miller, del quale daremo un estratto nel paragrafo seguente (1).

La diciamo vegetazione aerea, ma in un certo senso, in quanto, cioè, gli steli del microfita fanno prova di emergere, alzandosi dal terreno di vegetazione verso la luce e l'aria, ma pur rimanendo immersi, al modo delle alghe. Queste s'alzano parimenti dal fondo delle acque verso la superficie, se non che, nel nostro caso, l'ambiente liquido è costituito dalla saliva.

Tale fruttificazione o sporificazione propriamente detta, da noi (a quanto pare) per la prima volta indagata ed osservata, consta di *spighe* comparativamente lunghe (figg. 8^a 9^a 10^a 11^a e 14^a), formate da un trasudamento di sostanza viscida, debolmente colorabile, intorno alla sommità de' filamenti fertili; nella quale sostanza viscida sono impigliate le sporelline, piccolissime, tonde, vivissimamente colorabili, disposte in sei ordini longitudinali, come più oltre sarà dimostrato. Per modo che, negli esemplari più rigogliosi (fig. 14^a *f, g*), si possono contare fino a 120 sporelline per ogni serie, ossia per ogni *spiga* 720. Tutti i cocci o batterii minuti, come quelli della fig. 1^a *s* e della fig. 2^a *b* ed *i*, si debbono, fino a prova contraria, ritenere come semplici disseminazioni di tali *spighe*.

Vi è un'altra forma di produzioni speciali o (per modo di dire) pseudo inflorescenze, ed è quella disegnata nella fig. 12^a *a, b, c*, a foggia di *punte* stipate intorno a un filamento o ad un fascetto di filamenti fertili: *punte* le quali, cadendo, fanno i bacilli fusati, virgolati o serpentini. Se si ammette per un momento l'analogia di tali bacilli co'filamenti copulatori di altre crittogame, il *leptothrix* si potrà paragonare ad un fungo o ad un'alga *di-oica*, co'due sessi distinti sopra individui o filamenti diversi; e tali produzioni a *punte* rappresenterebbero gli organi maschili, i cui elementi, sparsi pel veicolo, mercè la loro mobilità sorprendente, compirebbero, in modo a noi ancora sconosciuto, le funzioni di *spermazii* o *anterozoidi*. In tale ipotesi rimarrebbe appieno spiegata la scarsezza numerica di tali supposte inflorescenze, rispetto alle fruttificazioni od organi femminili.

(1) W. D. Miller, *Die Mikroorganismen der Mundhöhle*, ecc. 1889 (v. la Bibliografia).

Riepilogando dunque, la serie morfologica e biologica del *leptothrix* comincia con la forma di cocci o di batterii; passa per quelle di catenule, di ceppaie, e finisce con la sporificazione, per ricominciare una nuova serie, e così di seguito fino all'infinito. Ma, oltre questo ciclo di riproduzione, se ne deve riconoscere un altro, di gemmulazione o proliferazione interna (quella già presagita dal Robin), che si verifica sulla parete interna della guaina de' filamenti, articoli e bacilli, e per la quale, dai bacilli istessi, vengono a generarsi nuovi batterii, mercè lo incremento delle gemmule di riserva, indicate nel paragrafo precedente. Dai quali batterii, a loro volta, vengono a riprodursi le catene, i tralci e loro articoli o bacilli, come si è veduto anche nella memoria precedente, a proposito de' bacilli *b'* ed *n* (nel basso) e dell'intreccio *uu* (fig. 1^a).

Consideriamo ora qual vasto fomite di disseminazione sia questo, collocato all'ingresso delle vie digestive ed aeree. Secondo i nostri calcoli, nella bocca e nel naso complessivamente, sarebbero sempre disponibili, ad ogni istante, da *due in trecento trilion*i di batterii od altri elementi del fungo (v. § 4), pronti a scendere nello stomaco con la deglutizione, e a piombare nelle vie aeree in ogni atto d'inspirazione. E, a confronto di questo semenzaio, cosa sono i pochi germi che si possono ispirare dall'atmosfera?

Ma, se un moto propulsorio balestra, da una inspirazione all'altra, interi sciami di elementi o germi del fungo nelle vie aeree, un moto più lento, ma continuo, sospinge de' germi od elementi analoghi nelle vie genitoorinarie, per contiguità, da un epitelio all'altro, e per continuità, lungo la patina mucosa, attraversando l'orificio uretrale, che il Pasteur paragonò a questo affetto al *tunnel* del Tamigi (1).

Di tali quistioni c'intratteremo brevemente nel paragrafo quarto, dove sarà anche dimostrata l'identità del *leptothrix praeputialis* col *leptothrix buccalis*.

Ora, perchè altri, volendo, sia pienamente al caso di ripetere e verificare le nostre osservazioni, veniamo a descrivere la tecnica seguita nella ricerca.

(1) Schutzenberger, Le fermentazioni, ecc. trad. Milano, 1876, pag. 204. V. anche il nostro articolo: Caso di vegetazione di funghi microscopici nell'uretra, ecc. *Morgagni*, aprile 1880.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEGLI ESPETTORATI

Nella memoria precedente trattammo della raccolta e preparazione degli espettorati, rinviando ad altra occasione la diagnosi di provenienza de'varii materiali espuiti, perchè gli espettorati propriamente detti si potessero differenziare dai boli alimentari, dagli sputi salivari o gutturali, e da' mocchi reflui dal naso. Ora è il momento di ritoccare questo punto, anche per rettificare alcune norme di preparazione e colorazione, le quali bene si attagliavano agli ordinarii esemplari di sputo, ma non tornerebbero egualmente opportune per le ricerche delle quali dobbiamo ora intrattenerci.

Non sempre il materiale, che viene ricapitato per la osservazione microscopica, proviene in realtà dalle vie aeree. Ricordiamo a questo proposito il caso di un ragazzo di anni 7, affetto da pertosse, del quale ci pervenne un bolo alimentare rigettato dallo stomaco e preso per un espettorato. Questo bolo presentava un aspetto gelatinoso, color tabacco, e conteneva un grandissimo numero di residui alimentari; ma quello che ci sorprese fu un fittissimo micelio di talli cospicui, sul tipo delineato nella fig. 3ª d della tavola annessa alla memoria precedente, con degli altri talli esili insieme intrecciati. La fruttificazione di questi micelii diede le identiche forme a capituli o sporangi, delineate ivi in *h* e *h'*, rigogliosissime, su ifi di fin cinque rami fruttiferi, miste a delle forme parimenti rigogliose di *aspergillus glaucus*. Il che, in questo caso, menerebbe a supporre la deglutizione de' relativi germi con gli espettorati, e il loro sviluppo secondario, anche più agevole e rigoglioso, nello stomaco. Ora la diagnosi in tai casi è agevolissima, nè reputiamo dovercene intrattenere.

Altra volta, massime ne' fanciulli, il vero espettorato è già caduto per terra o è stato inghiottito, quando l'assistente o la madre va per raccogliere lo sputo. Allora il paziente, in una nuova espulsione, per dir così, comandata, non dà fuori che un po' di saliva, mista a qualche fiocchetto di muco della gola o delle tonsille. Questi sputi, che diremmo salivari, si possono tuttavia riconoscere, mercè la chiarificazione dopo il riposo (d'ordinario il giorno appresso), con uno strato liquido soprastante (molto più considerevole che negli sputi *crudi* o negli espettorati misti a molta saliva), e uno scarso deposito, ricchissimo di epiteli boccali ed eventualmente di residui alimentari. Si riconoscono altresì alla *deficienza di epiteli ellissoidati e di granuli mielinici*, senza dire, per brevità, di altri criterii secondarii.

Altra sorgente di errore, contro la quale è difficile premunirsi, è quella del reflusso del muco nasale (per le coane) nella dietro-bocca), e della sua consecutiva espuizione, insieme a una certa quantità di saliva. È naturale che, neanche in questi sputi, si trovino gli epiteli ellissoidali e la mielina.

In ogni caso la presenza della mielina e de' predetti epiteli, autorizza, secondo noi, a ritenere lo sputo come proveniente dalle vie aeree. Sono due criterii importanti, quando, ad esempio, sorge il dubbio se uno sputo di aspetto rugginoso o semirugginoso provenga dal naso o dal petto; poichè, nelle nostre quotidiane ricerche sugli sputi, mai ci è avvenuto di trovare epiteli ellissoidali o mielina negli sputi spurii; mentre rarissime volte mancano ne' veri espettorati, e, quand' anche manchino nel primo preparato, appaiono ne' preparati successivi.

Veniamo ora al modo di raccogliere l'espettorato.

Quasi sempre l'atto della espuizione si compie in due momenti o colpi successivi; nel primo colpo di tosse efficace, vien fuori l'espettorato propriamente detto, quasi al tutto scevro di saliva, ed è quello che si curerà di raccogliere; ma immediatamente dopo, con un altro colpo di tosse, viene eliminata della saliva, con le lacinie residuali dell'espettorato, rimaste per via. Questo secondo sputo è quello che conviene eliminare (perchè quasi tutto composto di saliva), ordinando di raccogliarlo in altra sputacchiera. Si raccomandi poi al paziente di non trattenere lungamente in bocca l'espettorato (andando in cerca della sputacchiera), altrimenti si carica di saliva.

Meglio delle sputacchiere si porge all'uopo un piatto non colorato, tenuto al coverto dalla polvere, dove gli espettorati restino separati gli uni dagli altri, e sia quindi agevole sceglierne il più opportuno. Lo sputo va preso nel punto della sua maggiore viscosità, con una pinzetta o con un ago ricurvo, e sollevato, in guisa che la saliva, per avventura consociata, scoli pian piano e ricada nel piatto, con la parte più fluida del muco. Quel che resta sull'ago o nella pinza, è più che sufficiente per le ricerche, anche di molti giorni di seguito, e si può esser sicuri che non contiene punto o contiene pochissima saliva. Per conservarlo, lo si faccia scendere in un piccolo tubo di vetro, preventivamente espurgato con l'acido solforico e lavato con l'alcool, dove si serba inalterato per settimane intiere.

Per le preparazioni colorate fa d'uopo modificare le norme indicate nel lavoro precedente. La soluzione di violetto di genziana è meglio tenerla in boccetta separata dall'acqua d'anilina, per evitarne la scomposizione; ma si deve evitare d'immergere nella

soluzione colorante la bacchettina ancora tinta d'acqua d'anilina, o viceversa, adoperando espressamente due bacchettine diverse. Prima si deponga sul portaoggetti una goccia d'acqua d'anilina presa dalla relativa boccetta con una bacchettina, e immediatamente vi si aggiunga una goccia di soluzione colorante; mettendo prima questa soluzione e poi l'acqua d'anilina, si ha, nel preparato, una maggiore precipitazione di granuli colorati.

Nel detto miscuglio colorante fa d'uopo immergere la particella dello sputo, acciocchè si colori bene, anche nella sua superficie inferiore; mentre se la particella dello sputo si depone prima della tinta sul portaoggetti, vi aderisce, e in quella parte non si colora abbastanza bene. La particella dello sputo non deve esser maggiore di $\frac{1}{4}$ o $\frac{1}{3}$ di grano di miglio, perchè altrimenti, compressa fra le lastrine per ridursi alla voluta sottigliezza, avanzerà fuori del coprioggetti, e ne andranno perduti gli esemplari più istruttivi (che d'ordinario si rinvencono presso agli orli), oppure la preparazione risulterà troppo doppia, per lo studio delle particolarità più delicate.

La particella dell'espettorato, presa con un ago ricurvo, s'immergerà tosto nella goccia del miscuglio colorante, premendovela un istante con l'ago stesso, e poi si lascerà in quiete per un paio d'ore, sotto un vetro d'oriuolo o un bicchierino capovolto; salvo ad infondervi una goccia d'acqua distillata, presa con la bacchettina ancora bagnata nella tinta, quando si desidera una colorazione men forte, ovvero si teme l'indurimento parziale del preparato o la soverchia evaporazione, in tempo caldo.

Scorso il tempo voluto, si ritiri la particella dello sputo con lo stesso ago ben terso, e la si deponga in un vetro d'oriuolo contenente acqua distillata, agitandovela pian piano, onde si lavi dai depositi granulosi. Intanto si cambia, o si netta accuratamente il portaoggetti; vi si depone una goccia d'acqua distillata, e in questa si torna ad immergere la particella dello sputo. Adoperando per veicolo la glicerina, l'assottigliamento del preparato non si può spingere al grado voluto; senza dire che molte particolarità ne restano alterate o sbiadite. Si può la glicerina sostituire in secondo tempo, per conservare il preparato, lavando prima con la benzina, poi con l'acqua la superficie superiore del coprioggetti, insudiciata dall'olio adibito per la immersione.

Nel lavoro precedente raccomandammo di stendere e assottigliare la particella dello sputo con gli aghi; ma per le ricerche di cui ci occupiamo, la pratica sarebbe viziosa. Forse a questa manualità dobbiamo imputare il non aver colti prima taluni dettagli

che ora ci si rendono palesi, segnatamente rispetto alla fruttificazione del *leptothrix*. Infatti il diradamento con gli aghi non può fare a meno di guastare o distruggere i rapporti di contiguità ed anche di continuità, essenziali a conservare intatte le fruttificazioni in parola, le quali altrimenti andrebbero disperse, disgregate o distrutte.

Per assottigliare quanto basti il preparato, occorre deporvi il coprioggetti, centrandolo bene, e poi lasciarlo agire naturalmente con la propria pressione. A questo modo il muco si assottiglia e si spande lentamente, senza che ne rimangano alterati di molto i rapporti degli elementi che vi sono impigliati. Quando la preparazione è già in parte assottigliata, si preme leggermente e lentamente con la bacchettina, poi si lasci di nuovo in riposo, e così di seguito, finchè la sottilissima falda del materiale colorato non sia in tutti i versi prossima agli orli del coprioggetti; avendo cura in questi maneggi di lasciar colare da parte il liquido esuberante, senza che la superficie libera del coprioggetti ne resti umettata.

I preparati montati a questo modo, nell'acqua, sono limpidissimi, chiari e vivaci in tutte le loro parti; non presentano sovrapposizione di elementi o corpuscoli, e si conservano benissimo, anche in tempo caldo, sotto il microscopio per molti giorni, se si ha cura di umettarne di tratto in tratto uno degli orli, come dicemmo nella prima memoria. Anche i batterii che non furono, in primo tempo, raggiunti appieno dalla tinta, nel centro della particella di sputo, si vengono man mano colorando col tempo; ma le stesse colorazioni deboli sono talora utilissime per la visione di certi minuti dettagli.

Per ottenere delle fruttificazioni di *leptothrix* dagli espettorati, fa d'uopo prendere la particella di sputo, non già dal fondo, ma da quella banda delle pareti del tubolo, dove, a caso o a disegno, sia rimasta per varii giorni una striscia verticale di muco, aderente e sottile, come sarà detto altrove.

Lo studio delle fruttificazioni esige delle forti oggettive a immersione; altrimenti non se ne possono ravvisare i particolari: noi v'abbiamo impiegata un'oggettiva n.° 11 (¹/₁₈ i. o.) di Hartnack.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CONTENUTO BOCCALE

Diciamo partitamente della patina dentaria, della saliva e della patina della lingua.

Patina de' denti — Gli strati profondi di questa patina contengono più ceppaie e più intrecci di grossi filamenti, vivamente

colorabili con la soluzione iodica; le fruttificazioni invece si rinven-
gono soltanto negli strati superficiali; onde, per l'indagine di esse,
occorre possibilmente asportare il di sopra della patina. Radendo
il dente con una piccola zappa o con l'unghia, si asporta troppa
roba, che poi bisogna disgregare due volte, prima per isceglierne
una particella, poi per diradare e distender questa sul portaoggetti.
Siamo riusciti meglio con un ago ricurvo, scalfendo leggermente,
prima la superficie labiale del dente e portando la minutissima
particella della patina sul portaoggetti (sul quale sia deposta in
precedenza una goccia d'acqua d'anilina), e poi scalfendo simil-
mente il solco fra dente e dente, per deporre un'altra particella
eguale alla prima, sullo stesso portaoggetti. Le scalfiture sieno fatte
d'un sol tratto, d'alto in basso, affinchè le fruttificazioni patiscano
il minor guasto possibile. Questa operazione è meglio farla a sto-
maco digiuno; oltrechè s'intende che non darà effetti soddisfacenti,
nelle persone che forbiscono spesso i denti con delle polveri o delle
spazzole.

Si hanno così due isolette piccolissime di *leptothrix* entro la
goccia d'acqua d'anilina; ma esse sono ancora troppo fitte, per
poterle ridurre alla voluta sottigliezza. Si procuri dunque di leg-
germente dilacerarle con gli aghi, riducendole in detrito, in guisa
da non avere sul portaoggetti che una specie di polvere biancastra,
che occuperà circa la terza parte dell'area da coprire. Ciò fatto,
si aggiunga con la bacchettina un'altra goccia d'acqua d'anilina,
e tosto, con una bacchettina diversa, vi si faccia seguire una goccia
di soluzione di violetto di genziana. Delle altre colorazioni diremo
brevemente nel paragrafo quarto, essendo la manualità presso a
poco la stessa. Si lasci il preparato per poco sotto un riparo, e
quando lo si vegga ad occhio nudo sufficientemente colorato, lo si
copra, senza lavarlo, perchè in questo caso la lavatura porterebbe
via quasi tutti i frammenti, le fruttificazioni staccate e i bacilli
nuotanti intorno alle singole isolette.

Quando si desidera esaminare insieme la saliva e la patina
dentaria, invece di deporre preventivamente sul portaoggetti una
goccia d'acqua d'anilina, vi si deponga una goccia di saliva, nel
modo che or ora indicheremo, e il resto si faccia come sopra. Però
i preparati senza saliva riescono più sottili e più chiari; mentre
quelli misti a saliva non s'assottigliano a sufficienza, per la resi-
stenza opposta dai cumoli di grossi epiteli boccali, che s'inter-
pongono a guisa di sostegni tra i due vetri; peggio poi quando uno
di questi cumoli capita sopra un letto di *leptothrix*. Naturalmente
ne' preparati misti a saliva abbondano di più i ricchi coacervi di

diplococchi, i quali scarseggiano o quasi mancano ne' preparati della sola patina.

Da ultimo si apponga il coprioggetti e lo si comprima lentamente col manico della bacchettina, finchè lo strato di *leptothrix*, assottigliandosi, non giunga, per ogni verso, vicino agli orli del coprioggetti, lasciando colare da parte il liquido esuberante. Le preparazioni imbevute co' colori d'anilina indurano un poco (forse per l'azione dell'alcool che fa parte delle soluzioni); ma pure s'assottigliano abbastanza; s'assottigliano meglio quelle trattate con la soluzione iodica, e segnatamente quelle all'ac. picrico o le incolori, perchè più molli e cedevoli.

Per vedere chiaramente e in buon numero le fruttificazioni, bisogna aspettare qualche tempo. Naturalmente le fruttificazioni sono visibili di preferenza agli orli delle singole isolette, e non di tutte, perchè molte di esse non contengono che filamenti o cepaie; altre sono sciupate ed altre si ricalcano a vicenda, confondendo i rispettivi lembi. Ora ne' lembi ricchi di fruttificazioni, queste a principio sono infittite, ma, essiccato in parte il preparato e fattavi penetrare una nuova gocciolina d'acqua dissillata, il coprioggetti si solleva leggermente, e allora i cespugli di *spighe* cominciano ad aprirsi; le singole *spighe* si staccano le une dalle altre, e (ne' preparati all'acido picrico) se ne possono contare parecchie nel campo visivo. Le fruttificazioni isolate o i loro frammenti s'incontrano qua e là ne' dintorni delle zolle o nelle insenature occupate dal veicolo. Tali osservazioni si possono anche protrarre per più giorni, ridonando di tratto in tratto al preparato l'acqua evaporata.

Per la dimostrazione delle produzioni a *punte*, la tecnica va modificata, come vedremo nel paragrafo quarto.

Saliva — Perchè la saliva sia al possibile esente da spuma e da bollicine d'aria, si adotti questo ripiego. A stomaco digiuno si sputi leggermente sulla metà d'una bacchettina di vetro ben tersa, tenuta orizzontalmente per la punta; poi s'inclini la bacchettina col manico in giù, per modo che la saliva scorra lentamente verso il calcio, abbandonando così man mano, lungo il tragitto, le bollicine d'aria, le quali, come più leggiere, restano aderenti al vetro e trattengono la spuma. Quando all'estremità del manico si vede raccolta una gocciolina di saliva, la si prenda con la punta d'una seconda bacchettina e la si deponga direttamente sul portaoggetti (se si vuol osservarla insieme con la patina de' denti, per aggiungervi poi quest'ultima), o la s'immerga in una goccia di miscuglio colorante, già deposta sul portaoggetti, quando la si vuol esaminare isolatamente. Si copra la preparazione, non appena sia

colorata abbastanza, senza lavarla. Se la colorazione è molto debole, con semplici tracce di tinta, si scorge meglio il moto danzante ne' corpuscoli salivari.

Patina della lingua — A stomaco digiuno si abrada con una spatola, o meglio con una piccola zappa, il dorso della lingua, e della poltiglia abrada se ne prenda una particella piccolissima, per portarla nell'acqua d'anilina previamente deposta sul portaoggetti. Quindi la si disgreghi diligentemente e colori, trattandola come la patina de'denti. Però, attesa la sovrapposizione degli epitellii, questi preparati non s'assottigliano mai bene, e quindi non si rendono chiari abbastanza che in pochi punti, per lo studio co' forti ingrandimenti.

Del muco nasale e dello smegma balano prepuziale non occorre trattare a parte, poichè al primo si applicano le stesse norme già indicate per gli espettorati, e al secondo quelle indicate ora per la patina della lingua. Solo avvertiamo che i preparati del detto smegma si colorano in modo poco soddisfacente con le aniline, attesa l'abbondante precipitazione dovuta ai grassi; meglio adoperarvi la soluzione iodica o l'ac. picrico.

§ 3.*

Nozioni finqui ricevute sui microorganismi boccali secondo il Miller.

STORIA E GENERALITÀ

Quando avemmo ad osservare per la prima volta le fruttificazioni del *leptothrix*, di cui ne' comuni libri di microscopia non è fatta menzione di sorta, andammo naturalmente a consultare diverse fra le pubblicazioni speciali citate nell'appendice bibliografica, per vedere se mai altri avesse descritte quelle fruttificazioni prima di noi; ma tali ricerche riuscirono negative. Il Robin, è vero, le aveva come presagite, nel passo che serve di epigrafe a questa memoria; ma i granuli da lui menzionati non sono che le gemmule di riserva di questo microfita. Tuttavia non ci saremmo determinati così presto a parlarne, se non ci fossimo inaspettatamente imbattuti in un esemplare veramente cospicuo di tali fruttificazioni, in un espettorato pulmonitico (v. la fig. 14*). Volemmo allora prendere cognizione dell'ultimo lavoro del Miller testè citato, e, lettolo, ci risultò che neppure egli ne parlava; anzi le sue vedute procedevano in senso diametralmente opposto alle nostre.

Dell'esemplare trovato nello sputo pulmonitico diremo nel paragrafo quarto. Stando al Miller, ecco quali sarebbero attualmente le nozioni acquisite sui microbi della bocca.

Nel capo terzo del suo volume: *I microorganismi della cavità boccale, malattie locali e generali da essi prodotte* (il più completo e il più recente sulla materia) il ch. prof. berlinese si fa ad esporre le antiche e recenti nozioni scientifiche sui microbi boccali, incominciando dal loro scopritore, il Leeuwenhoek; il quale, nel 1683, prima sui suoi proprii denti, sempre accuratamente netti, poi sui denti di un vecchio, scopri, *magna cum admiratione*, degli *animalculi* da lui figurati (fig. 10^a del Miller), e de' quali alcuni somigliano ai bacilli virgolati: *multa exigua admodum animalcula jucundissimo modo se moventia*.

Il Lebeaume paragonò il tartaro de' denti a formazioni di corallo. Il Mandl ritenne che il tartaro derivasse dagli avanzi calcarei de' vibroni da lui descritti, e che supponeva fossero uccisi dal calore, dall'ac. cloridrico e dall'alcool. Il Bühlmann osservò per primo i filamenti del *leptothrix* e li descrisse, senza pronunciarsi sulla loro natura, se animale o vegetale.

L'Henle pel primo ritenne siffatti microbi di natura vegetale.

L'Erdl trattò i denti carciati con l'ac. cloridrico, e dalla corona ottenne una specie di membranella delicata di rivestimento, tutta composta di parassiti.

Il Ficinus trattò diffusamente de' microbi del cavo della bocca, che ritenne di natura animale e che abbracciò sotto la denominazione generica di *animalculi denticoli*; descrisse i filamenti del Leeuwenhoek e del Bühlmann, i granuli, gli epiteli, i corpuscoli di muco, formanti la patina dentaria, non che certi infusorii che accidentalmente vi ospitavano. I batterii e i bacilli in attivo movimento, non solo reputò veri animaletti, ma immaginò fossero muniti di bocca nella loro superficie ventrale, assimilandoli ad infusorii privi di ciglia, probabilmente corazzati, sul tipo de' generi *paramaccium* e *kolpoda*.

Nel 1847 il Robin ritenne che il microorganismo principale della bocca fosse un'alga che denominò *leptothrix buccalis*.

Il Klencke, proseguendo le ricerche del Bühlmann e del Ficinus, disegnò gli *animalculi denticoli*, i filamenti del Bühlmann (riprodotti nella fig. 11^a del M.), e, seguendo i preconcetti del Ficinus, ne disegnò perfino le bocche ventrali, come si può vedere nella citata figura.

Prevalsero intanto le idee del Robin, e il *leptothrix* fu ritenuto come un'alga o un fungo *sui generis*, dall'universale, tranne

dal Frey che, dietro le vedute dell'Hallier, lo ritenne per una morfa di *penicillium glaucum* e dal Tilbury-Fox che lo giudicò *nè più nè meno* che una forma di *oidium* (1).

Dopo questi cenni storici, il M. passa a descrivere il suo metodo di ricerca, dal quale apparisce che l'A. e gli osservatori precedenti non hanno adoperate le cautele e gli avvedimenti necessari, da noi già esposti, per la raccolta e la preparazione del contenuto boccale, nè istituirono de'raffronti con gli espettorati. Le loro maggiori cure furono rivolte alla coltura de'microbi boccali, e nello studio della patina dentaria, non si avvalsero de'sistemi a immersione se non per l'esame speciale di taluni frammenti o microbi isolati o delle loro colture. Niuna maraviglia quindi che eglino non si sieno incontrati nelle fruttificazioni e nelle produzioni a *punte* del *leptothrix*.

Il M. dice delle colture sull'agar e sul siero del sangue di vitello, e dalle migliaia di saggi deduce la preferenza da accordarsi all'agar peptonizzata con brodo di carne, aggiuntovi 0,5-1 per 100 di zucchero. Le colture le fece con la saliva, con la patina de'denti cariati, con la raschiatura del dorso della lingua o delle esulcerazioni dentarie, o con le polpe dentarie alterate. Le colture della saliva nella gelatina riuscirono negative; fece prima la coltura a striscio, poi nell'agar o nella gelatina. Spesso i batterii educati nell'agar non riuscirono nella gelatina, per la bassa temperatura che occorreva mantenere.

Ritiene sufficienti, per lo studio generale, le amplificazioni da 20 a 300 d. salvo per la particolare morfologia, da studiarsi coi sistemi a immersione omogenea; parla de' funghi provenienti dallo esterno, come i bacilli del loglio, delle patate, dell'ac. lattico, del pus verde, non che del *micrococcus tetragenus*, del *mycoderma aceti*, dello stafilococco piogeno, aureo ed albo, ecc. allo scopo di eliminarli dalle colture. Ma sopra alcune di queste forme torna poi nel capo non, come vedremo più oltre.

Il M. quindi classifica i microbi veramente costanti, o primari della cavità boccale, in sei specie diverse, delle quali diamo uno specchietto, ponendo a fianco di ciascuna specie del M. le denominazioni corrispondenti alle nostre vedute.

(1) Frey, op. citata nella Bibliografia, pag. 278—Tilbury-Fox *apud* Beale op. cit. nella Bibliografia, pag. 491.

SPECCHIETTO

Secondo il Miller	Secondo le nostre osservazioni
1. <i>Leptothrix buccalis</i> (<i>leptothrix innominata</i>)	— <i>Leptothrix buccalis</i> .
2. <i>Bacillus buccalis maximus</i>	— Frammenti di ceppaie.
3. <i>Leptothrix buccalis maxima</i>	— Ceppaie.
4. <i>Jodococcus vaginatus</i>	— Inguainamenti speciali di batterii derivanti da talune gemmule di riserva.
"	
5. <i>Spirillum gnutigenum</i>	— Bacilli fusati o virgolati (organismi copulatori?).
"	
6. <i>Spirochaete dentium</i>	— Spirillo (frammentazione dei filamenti più esili).
"	

Le sei specie o tipi, di cui sopra, si trovano in ogni bocca, lo spirillo sputigeno si trova alle volte, quasi in coltura pura, nei cavi cariosi, e lo *spirochaete dentium* nel solco gengivale. I saggi co'mezzi comuni riescono senza effetto; le colture anche in sostanze miste a saliva, ad acidi od alcali, a poltiglia del cavo carioso, a muco dentario ricavato dalla ebullizione de' denti cariati, riescono parimenti a vuoto, tranne per qualche specie, le colture a striscio, ma con la produzione di soli 15 o 20 articoli, e questi non riproducibili in seconda coltura.

Riassumiamo ora i caratteri assegnati dal M. a queste sei specie primarie, incominciando dalla *leptothrix innominata*.

LEPTOTHRIX BUCCALIS (*leptothrix innominata*)

La denominazione di *leptothrix buccalis* va dovuta al Robin, il quale la usò come appellativo generico di tutti i microbi boccali. L'Hallier, il Zopf e quant'altri si occuparono di tale argomento, si uniformarono a questo concetto unitario, ritenendo i batterii mobili come *spore in attività del leptothrix* e i cocchi e i batterii immobili come *spore vaganti in istato di quiescenza*.

Leber e Rottenstein trovarono caratteristica delle varie forme di microbi boccali (compresi da loro sotto l'unica specie *leptothrix*) la bella colorazione violetta col iodo e con gli acidi; ma il M. osserva che tai forme devono ritenersi di specie diversa, quantunque mostrino la stessa reazione a que' mezzi coloranti, per la ragione che i filamenti di *leptothrix non sono articolati* (e tali li ritenne anche il Robin); mentre i bacilli o filamenti a reazione iodica sono articolati. Ora siffatto criterio distin-

tivo può egli bastare a caratterizzare una specie? Vedremo anzi più oltre che degli articoli, de' bacilli o bastoncini nodosi si possono trovare in continuità con le catenule, e queste co' filamenti fertili (non articolati), come nelle figg. 7^a e 8^a della nostra tavola; il che dimostra che l'essere o no articolati tai filamenti e bacilli, o semplicemente a rosarii o a catene, non costituisce differenza specifica. Oltrechè i filamenti più, diremmo, legnosi e articolati giacciono nel piano inferiore della patina, o si trovano allo scoperto per l'attrito che ne porta via il di sopra, per modo che i fusti residuali inspessiscono, indurano, e le loro gemmule interne danno luogo a formazione di batterii inclusi. Il Vignal non si mostrò di parere diverso, ritenendo per *leptothrix* un fungo boccale da lui coltivato, sebbene presentasse de' setti trasversali, distintamente visibili con le aniline; e lo stesso M. nell'articolo sulla *leptothrix gigantea*, di cui diremo più oltre, la pensava a questo modo.

In questi ultimi anni i batterii a manopoli ed altri funghi boccali furono identificati col *bacterium termo* dallo Stockwell, dal Clark e da altri. Nella memoria precedente anche noi ritenemmo plausibile tale identità; ma il M. la rigetta assolutamente, perchè la denominazione di *bacterium termo* abbraccerebbe un fascio di forme e specie svariatissime. Egli rigetta similmente le denominazioni di *leptothrix buccalis* (data dal Robin) e di filamenti denticoli (data dal Bühlmann): nomi che, a detta dell' A. sarebbe oramai tempo di bandire dalla microfitologia. Tuttavia per quei filamenti boccali poco noti, che appaiono tali, da costituire un gruppo od una specie separata dagli altri funghi, egli propone la denominazione di *leptothrix innominata*. Come si vede l' A. allude ai nostri filamenti fertili e ne fa una specie a parte.

La *leptothrix innominata* del M. (il vero *leptothrix* prossimo alla fruttificazione, secondo le nostre vedute) si trova nella patina dentaria (*materia alba* del Leeuwenhoek), costantemente, ma in quantità non eguali, in ogni bocca. È scarsissima in quelli che si puliscono i denti, ed è ben naturale (osserviamo), perchè essendo in cima ai cespugli, è la prima ad esser portata via dall'attrito. La patina dentaria presenta de' mucchi grandi e piccoli di granuli rotondi e, agli orli, de' filamenti sottili, variamente ricurvi. I granuli furono considerati come la *matrice* del fungo, essendo stati ritenuti come spore del *leptothrix*, ma per l'A. sono in parte micrococchi estranei al *leptothrix*, o sono de' semplici punti d'incrocio de' suoi filamenti.

I filamenti, di lunghezza molto svariata, sono larghi da 0, 5

a 0, 8 μ , talora attorcigliati, immobili, non articolati (questo non è sempre esatto), ordinariamente a contorni irregolari, come *mal-nutriti* o *morti* (mentre invece contengono delle gemmule e portano delle *spighe*). Ne' dintorni vi sono anche numerosi filamenti più corti o bastoncini, i quali potrebbero (secondo lo stesso A.) essere de'semplici frammenti de'filamenti più lunghi, oppure delle *cellule* del fungo, non ancora giunte al loro pieno sviluppo.

Adoperando la soluzione iodica leggermente acidulata con l'ac. lattico, sotto un' amplificazione di 350 d. vi si veggono frapposti degli epiteli, delle agglomerazioni di micrococchi (fig. 12^a del M.) e delle forme diverse di bastoncini e filamenti pure di *leptothrix* tinti debolmente in gialliccio o in giallo. Altri bacilli invece, più grandi, si tingono in turchino violetto carico, e questi il M. propone di chiamarli *jodococcus vaginatus* e *bacillus buccalis maximus*.

Altrove (pag. 203) lo stesso A. tornando a parlare della sua *leptothrix innominata*, attesta che essa non è assolutamente coltivabile in qualsiasi terreno: affermazione giusta, se s'intende degli usuali terreni di coltura, ma non egualmente vera per gli espettorati, ne'quali vedremo trovarsi, non solo delle colture naturali, ma anche le più rigogliose fruttificazioni di questo parassita.

ALTRI MICROORGANISMI PRIMARI DELLA BOCCA

Bacillus buccalis maximus — Consta di bacilli o filamenti isolati, più sovente di cespugli; i filamenti, della lunghezza di 30, 50 μ (fig. 13^a del M. colorazione con la soluzione iodica acidulata) sono chiaramente articolati; i bacilli isolati, o articoli, lunghi da 2 a 10 μ . Lo spessore è di 1-1,3 μ . È questo, de' funghi primarii della bocca, il più grande; non tutte le sue parti si colorano egualmente col iodo (fig. 14.^a del M. da raffrontarsi con la nostra fig. 1.^a *m, m, n, n', q, r* e con la fig. 3.^a *a, b, c, d*). Non si osserva ne' canalini dentarii, probabilmente perchè la sua grossezza gl'impedisce di penetrarvi.

Il M. lo ritiene di specie diversa dalla *leptothrix innominata*, per la grossezza, per l'esistenza de' setti o nodi, perchè non s'infilette mai a *zig zag*, e perchè possiede una reazione iodica molto più spiccata. Ma tali criterii, debolissimi per loro stessi, non sono neppure costanti. Valga di esempio l'esemplare delineato nella fig. 7.^a *d*, in cui il filamento di *leptothrix* (filamento fertile, non settato) si spicca da una porzione di catena, che sorgeva in punta a un grosso filamento nodoso. Chè, se questi grossi filamenti com-

paiono in ceppaie o intrecci separati, ciò si deve allo interrimento prodotto dalla vegetazione superiore e poi all'abrasione di quest'ultima, per l'attrito.

Vedremo di qui a poco che nell'acqua vive un *leptothrix* assolutamente identico a questo *bacillus buccalis maximus* del M.

Facciamo, inoltre, osservare che de' setti evidentissimi si scorgono talora, anche ne' filamenti più esili, come nella fig. 3.^a *g*, in cui notammo un segmento opaco, fortemente colorato, nel mezzo, e due segmenti chiari, pallidi, ai due estremi. Questo filamento, paragonato al bacillo *d* (medesima figura), non rappresenta neanche la ventesima o trentesima parte della sua spessezza. Lo stesso M. (in un suo precedente lavoro, del 1883, sulla *leptothrix gigantea*, di cui parleremo più oltre) descrive de' bastoncini e dei cocchi contenuti nelle guaine de' filamenti di detta *leptothrix* (fig. 2.^a 3.^a e 4.^a della relativa tavola); anzi nella fig. 5.^a disegnò perfino un cumolo di bastoncini, scappato fuori da' filamenti predetti, per isvuotamento. I filamenti esilissimi delineati nelle fig. 2.^a 3.^a e 4.^a sono a loro volta articolati.

Leptothrix buccalis maxima — Lo stesso a. non è sicuro se questa sia una specie veramente separata o non piuttosto una forma più giovane dello stesso *bacillus buccalis maximus*, dacchè la sola differenza starebbe nella mancanza della reazione iodica e nella maggior distanza delle articolazioni.

Jodococcus vaginatus (fig. 15.^a del M. riprodotta nella nostra fig. 5.^a) — Si trova in tutte le bocche non pulite, piuttosto in gran numero; il M. lo vide mancare soltanto in due fanciulli. Consta di quattro a dieci *cellule* o acini, raramente più, disposti di traverso in catena, ed aventi forma di scudetti appiattiti o rotondi, oppure di tetraedri. La catena ora è nuda, come in *pp* della nostra fig. 1.^a ora inguainata. La guaina, larga 0.75 μ (noi la trovammo anche più ampia), è incolore, o appena si rende debolmente giallastra, dopo lunga imbibizione iodica; mentre gli acini si tingono in turchino carico, fino al violetto. Altre volte la guaina è rotta, o vaca il posto di alcuni acini, oppure questi sono caduti.

Non ridiremo ciò che esponemmo nel paragrafo primo sul conto di queste catene, sulla loro guaina da noi tardi ravvisata, e sulla presenza, nelle medesime, di diplococchi arcuati, morfologicamente identici al *gonococco* del Neisser. Solo ci limiteremo a ricordare che, trovandosi tai morfe anche nell'orina (e in dimensioni anche maggiori), e trovandosi appunto co' filamenti e con altre forme di *leptothrix*, si rende sempre più probabile la loro attinenza con questo parassita, il più diffuso, se non il solo, che, per quanto si

sappia, abiti simultaneamente nella bocca e sulla mucosa genito-urinaria esterna.

Ma, ammettendo pure che il *jodococcus vaginatus* del M. si debba ritenere come onninamente diverso dalle catenule invaginate da noi descritte nella fig. 2^a a, resta sempre dubbia la loro entità come specie distinta. Lo stesso M. nel citato lavoro del 1883, descrisse e figurò (tavola annessa, fig. 8^a) degli articoli, divisi in due e poi in quattro piccoli cocci, disposti, come nel *jodococcus vaginatus*, a coppie o a tetraedri; anzi nel porco trovò de' *filamenti interi di leptothrix* composti di tali serie di cocci, come riferiremo più oltre.

Spirillum sputigenum (fig. 16^a e 17^a del M. e fig. 3^a h della nostra tavola)—Si trova in ogni bocca, e più nelle persone che non puliscono i denti. Si noti questa circostanza, che vale a conferma delle nostre vedute, poichè la politura de' denti distrugge, volta per volta, le pseudo inflorescenze o produzioni a *punte*, donde prenderebbero origine tai bacilli virgolati, insieme co' fusati e serpentinati: vedremo infatti che anche la semplice masticazione vale a distruggere la più parte di tali pseudo inflorescenze, per modo che la loro ricerca si deve fare a stomaco digiuno. Qual meraviglia dunque se i prodotti loro (principalissimo de' quali sarebbe il detto spirillo sputigeno) scarseggino tanto in quelli che si nettano abitualmente i denti? Il loro numero, prosegue il M. è veramente enorme nelle bocche non nette.

Questi microbi hanno forma di piccoli bastoncini a virgole, dotati di vivi movimenti di succhiello; se si uniscono a due a due, formano delle serpicine a foggia di lettera s.

Il Lewis (come accennammo nel paragrafo primo) identificò questo microbo col bacillo detto colerigeno; però la sua presenza nella bocca era già nota e da alcuni fu anzi attribuita a frammentazione degli spirocheti. Il Clark lo ritenne causa della carie, attesa la sua penetrazione ne' canalini dentarii, come lo mostra la fig. 17^a del M. Questo a. esclude ogni attinenza fra lo spirillo sputigeno e il bacillo reputato colerigeno, basandosi sulla coltura, che riesce positiva per quest' ultimo, mentre è riuscita costantemente negativa per le virgole della bocca. Comunque sia, non è da pretermettere quest' altra conferma delle nostre vedute; poichè, se le virgole in parola non sono in realtà che tanti organi o filamenti copulatori, è ben naturale che esse mentre fecondano gli articoli o le spore sieno per conto proprio incapaci di riprodursi (1).

(1) Avevamo allestito questo lavoro, quando, nel *Lancet* del giugno ultimo, trovammo un importante articolo del Dowdeswell, sul *comma bacillo*

In appendice allo spirillo sputigeno, il M. novera altri due tipi di filamenti ricurvi; l'uno corto, massiccio (fig. 32), mobile, fluidificante la gelatina; l'altro esile, immobile e più ricurvo (fig. 18^a), che invecchiando darebbe luogo a catenule di cocchi, sebbene l'A. non v'abbia constatato delle spore. Questo microbo cresce è vero nella gelatina, ma in modo diverso dal bacillo colerigeno.

Spirochaete dentium (fig. 20 del M. e fig. 4^a c. della nostra tavola)—Non si trova ne'denti cariati, ma nell'orlo o solco gengivale, insieme allo spirillo sputigeno (gengivite marginale); presenta delle spire lunghe 8-25 μ , di vario spessore, le più esili poco colorabili. L'A. istesso dubita se delle spire esili si debba fare una specie a parte, perchè le più grosse gli paiono affini allo spirillo sputigeno. Il loro sviluppo sarebbe sconosciuto: « sappiamo poco o nulla (egli dice) delle condizioni vitali e delle manifestazioni loro, come fermentazione, azione patogenica, ecc. ».

Per conto nostro facciamo osservare che, ne'materiali capitati sotto la nostra osservazione, abbiamo trovati questi spirilli o spirocheti costantemente in compagnia del *leptothrix*. Nella memoria già ricordata, sulla febbre ricorrente, parlammo degli spirilli e spirocheti che si producono nell'infuso di patate, insieme a filamenti, bastoncini o altri elementi varii del *leptothrix*. In una comunicazione posteriore, sopra un diplococco analogo al *gonococco* del Neisser, in un caso di carcinoma della vescica, parlammo degli spirocheti sorprendenti che si riscontrano nella patina delle bottiglie d'acqua stantia. Riteniamo la denominazione di spirocheti per quegli spirilli che si ripiegano ad ansa, secondo il Zopf, e segnano così una specie di passaggio tra lo spirillo propriamente

del colera. Dopo aver accennato all'ipotesi molto divulgata, che tai virgole non sieno se non *frammenti di spirilli*, l'a. ne descrive tre cicli di evoluzione. A) Virgole o frammenti di spirilli, finiscano oppur no in sporule — B) Cellule attive, ciliate, e forme ameboidi; poi cellule tonde quiescenti (sporangi), terminanti in minute sporule — C) Filamenti attivi, terminanti in sporule della prima generazione. L'a. però non è riuscito, *con nessun metodo*, a riprodurre le virgole normali, vitali e riproduttive *per sè*. Egli attesta che i bacilli del colera si trovano normalmente nell'intestino crasso del porcellino d'India, e che l'inoculazione sottocutanea di gran quantità di tai bacilli produce bensì de' sintomi coleriformi in questo animale; ma che non si tratta in realtà d'infezione colerica, bensì di vera setticemia o sapremia, attesa l'alta temperatura che l'accompagna. Il fatto poi delle *forme leptotriche*, rinvenute dall'a. nelle colture del bacillo virgola, viene sempre più a rinfianco delle nostre vedute. Dowdeswell, *Note on the morphology of the cholera comma bacillus*, nel *Lancet*, 1890, vol. I, pag. 1419-23.

detto e la spirulina. Ora, per osservazioni posteriori, abbiamo da aggiungere che, nella patina delle bottiglie, gli spirocheti circondano le isolette o zolle di un microfita filamentoso che somiglia, allo stato naturale, ai filamenti della *leptothrix gigantea* del cane, segnatamente ai più esili, delineati nelle figg. 2^a, 3^a e 4^a del già menzionato articolo del M. Gli intrecci di quei filamenti della patina suddetta colorati con le aniline, somigliano invece, con la massima esattezza alle zolle di *bacillus buccalis maximus* del M. giusta la fig. 13^a dell'ultima opera di quest'autore. Secondo il Zopf, il *leptothrix* è un microfita che vive nell'acqua (1).

Dicemmo nella citata comunicazione che, in mezzo a quelle zolle filamentose della patina delle bottiglie, vi sono de' vivai di vorticelle.

Ora non è improbabile che gli spirocheti nascano quivi da' filamenti più esili della *leptothrix gigantea*, e nella bocca da quelli del *leptothrix buccalis*, come si dirà di qui a poco, e che la *leptothrix gigantea* e il *bacillus buccalis maximus* o *leptothrix buccalis maxima* del M. sieno tutt'uno. Abbiamo notato poi nella patina delle bottiglie che le ceppaie e le vorticelle non vi mancano mai; mentre gli spirocheti vi si trovano soltanto in estate e attivissimi. Di qui si dovrebbe inferire che la temperatura influisca molto sulla produzione degli spirilli e spirocheti, come già lo arguiva il M. dalle colture, e come lo confermerebbe la loro abbondanza nella bocca.

Diremo più oltre degli spirilli che in certi casi abbiamo veduto accompagnare il *leptothrix* del prepuzio o dell'uretra.

MICROORGANISMI SECONDARI

Leptothrix gigantea (fig. 21^a del M.) — Questa forma fu trovata prima dal M. nell'intonaco dentario d'un cane affetto da piorrea alveolare, e rinvenuta in seguito anche in altri carnivori e in erbivori. Si presenta in rigoglioso sviluppo, in forma di cespugli, come di *crenothrix*, i cui steli divergono in alto, con de'cocchi, dei bastoncini e de' filamenti, talora alternati sulla stessa linea. Gli steli sono polimorfi, varii di spessore; alcuni ingrossano leggermente verso la punta. Ve ne sono di forma spirale, in tutto o in parte,

(1) Zopf, *Die Spaltpilze*, Breslau, 1883, pag. 80 e segg. — Vicentini, Sopra un diplococco analogo al *gonococco* del Neisser, rinvenuto nell'orina in un caso di carcinoma della vescica, tomo XLIII degli atti della R. Accademia di Napoli, 1889.

e di quelli che si duplicano e si attorccono in spiruline (fig. 12^a della tav. annessa all'articolo del 1883).

In questo articolo, pubblicato negli Atti della società tedesca di Botanica, con una tavola, si trovano maggiori dettagli sul micro-fita in esame. I suoi filamenti più vecchi sono articolati; alcuni sono spirali e reciprocamente attorti alla base (fig. 1^a E, a). Le articolazioni de' filamenti più esili non sono discernibili senza colorazione. Vi sono de' filamenti guainati, i cui articoli interni talora si evacuano e formano de' cumoli di bastoncini di varia grandezza (fig. 5^a); altri articoli si comprimono, o si rigonfiano, o deviano dalla linea assiale (fig. 1^a A, B, C). Co' mezzi coloranti, segnatamente nel porco, vi si trovano degli articoli suddivisi in due o in quattro piccoli cocci, a gruppi di due o di quattro, i quali occupano talora l'intera lunghezza del filamento (fig. 8^a). Ne' cespugli si osservano filamenti dritti e filamenti tortuosi; questi poi hanno ora curvature dolci e di lungo passo, che l'A. chiama *forme vibrioniche* (fig. 9^a V, riprodotta nella fig. 6. della nostra tavola), ora curve risentite e di breve passo che chiama *forme spirilliche* o *spirochetiche* (figg. citate, Sp). Ne' filamenti più fini si veggono de' passaggi dalle forme vibrioniche alle spirilliche, nello stesso filamento (fig. 10. e 11). Nelle forme spirilliche di questi filamenti esili, mediante idonea colorazione, si distinguono delle articolazioni.

Il M. nel 1883 sospettava che le stesse spire esili della patina dentaria nascessero dalla frammentazione di lunghi ed esili filamenti tortuosi (fig. 13. e 17.). Negli spirocheti dentarii non vi è traccia di articolazioni, ma negli spirocheti palustri, mercè debole colorazione col metodo del Zopf, se ne scorgono anche parecchie in ogni filamento (fig. 20). Di qui l'A. inferiva allora, potersi scoprire delle attinenze tra gli spirocheti ed altri microbi boccali, ma ora, nel lavoro del 1889, pare si sia messo per una via opposta a tali vedute unitarie.

Il M. non sa dire se la specie di *leptothrix* da lui e da altri rinvenuta negli erbivori domestici e nel porco, sia identica a quella che abita nella bocca dell'uomo e de' carnivori; converrebbe (egli dice) istituire colture pure. Comunque sia, è importante riconoscere l'esistenza di un *leptothrix*, anche negli erbivori: esistenza già ammessa dal Zopf; mentre prima si credeva che il *leptothrix* abitasse esclusivamente nella bocca de' carnivori (1). È vero che abbonda meno negli erbivori; ma, se non

(1) Cornil e Babes, op. cit. pag. 135. — Zopf. loc. cit. Questo a. ritiene probabile l'origine del *leptothrix buccalis* dal mondo esterno, segnatamente per

andiamo errati, si deve tener conto che questi (massime i ruminanti) hanno i denti in continuo esercizio, sicchè il parassita non può prosperarvi a sua posta (1).

Funghi boccali colorabili in turchino o violetto col iodo— Oltre il *bacillus buccalis maximus* e il *jodococcus vaginatus*, ve ne sarebbero, secondo il M. altri tre, a reazione iodica spiccata, cioè *a) jodococcus magnus* (fig. 22.) che si colora in violetto; *b) jodococcus parvus*, pure in violetto; e *c)* altro iodococco colorabile in rosa col iodo e coltivabile sopra una prima placca, ma non riproducibile in seconda coltura.

Funghi boccali coltivabili — Sarebbero parte non patogeni, parte d'ignota efficienza patogena. Nella fig. 23.^a dell'A. sono disegnati diversi tipi di questi batterii boccali; in *a*, *c*, *g* forme a vite, in *b* cocchi, in *d* bastoncini, in *e* una catena di cocchi invaginata, in *i* una lunga catena (ma di queste ce n'è a dozzina nella patina linguale, cotalchè, a senso nostro, è impossibile separarle dal *leptothrix*), in *f* catene di bastoncini, e in *k* forme filamentose diverse (per le quali milita la stessa osservazione).

Lo stesso M. lo chiama un garbuglio, da non potersi rischiare senza enorme lavoro, poichè nella bocca possono annidarsi tutti i batterii del mondo esterno. L'A. di ventidue specie che isolò nel 1885, ne delinea diciannove, cioè dalla fig. 24 alla fig. 27. cocchi; dalla fig. 28. alla 29. bastoncini; dalla 30. alla 31. bastoncini più lunghi; un *vibrio viridans* (nella fig. 32.) che liquefece la gelatina e produsse una sostanza colorante verde; uno spirillo (fig. 33.); de' filamenti lunghi (fig. 35.), e catenule in parte inguainate (fig. 34).

Tralasciamo altri sette tipi ottenuti da colture a striscio.

Il M. riferisce in seguito le ricerche del Vignal, che trova proprie ed esatte; tali ricerche condussero alla educazione di diciassette specie di funghi, in colture pure; alcuni identici a funghi già noti, altri ignoti. Il più frequente fu il *bacterium termo*, poi il *bacillus ulna*, poi il bacillo delle patate, poi tre altri bacilli ignoti, poi il *bacillus subtilis*, poi lo stafilococco piogeno albo, poi l'aureo, poi altri cinque bacilli ignoti, poi il *leptothrix*.

mezzo dell'acqua e degli alimenti; abbiamo già detto del *leptothrix* da noi rinvenuto nella patina delle bottiglie d'acqua; ma come spiegare il *leptothrix* delle vie genitoorinarie?

(1) Miller, *Ueber einen Zahn-Spaltpilz, Leptothrix gigantea* (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, Heft 5, 1883, pag. 221 e seg.).

Dal quale prospetto, risulterebbe pel Vignal una gran preponderanza di bacilli, pel Miller invece una gran preponderanza di cocci. Il Miller imputa la divergenza de' risultati all'aver il Vignal adoperata la gelatina, su cui non tutti i microbi in quistione attecchiscono.

Il Black ha rinvenuto per conto proprio, nel contenuto boccale, uno *streptococcus continuosus*, uno *staphylococcus medius*, uno *staphylococcus magnus*, un *coccus cumulus minor* e un *bacillus gelatogenes* (1).

A dirla francamente, noi non ci siamo ancora riusciti a persuadere che da codesti esperimenti di coltura si possa cavare gran costrutto per la identificazione delle specie de' batterii o bacilli, attesa la loro polimorfia sconfinata, a seconda de' vari sostrati nutritizii e delle svariate condizioni dell' ambiente; per modo che, dove manca la prova decisiva della fruttificazione, non si possono accettare come equipollenti i risultati delle colture per vegetazione terragna o immersa, senza il beneficio dell'inventario; senza, per lo meno, incorrere nel rischio evidente di moltiplicare le specie e le proprietà patogeniche (vere o supposte) de' batterii, fino allo infinito.

Particelle o *cellule* diverse di uno stesso organismo possono, infatti, aver bisogno di sostanze anche diverse per la loro nutrizione; possono fluidificare oppur no certe sostanze, e segregarne altre di natura differentissima, come fanno, a ragion d'esempio, il corpuscolo osseo, la *cellula* epatica, il corpuscolo sanguigno, l'epitelio renale, ecc. Parimenti, ne' vegetali superiori, le foglie, le radici, le gemme, i semi ecc. contengono sovente principii od alcaloidi onninamente diversi. E la stessa particella o *cellula* si può, sotto questi rispetti, atteggiare diversamente, in uno o in altro stadio di sviluppo, in questo o in quell'altro ambiente o pabolo nutritizio.

Comunque sia, tornando alle sei specie primarie di microorganismi ammesse dal Miller nella cavità boccale, con tutto il rispetto dovuto all'illustre autore, non sapremmo neanche rimuoverci dal concetto (non nostro, ma antico) della unità fondamentale di tutte queste forme, e della loro derivazione da una specie unica, il *leptothrix buccalis* del Robin, di cui, nel paragrafo seguente, verremo, per conto nostro, divisando le fasi principali di vita. Si potrebbe, tutto al più, accampare qualche dubbio per gli spirilli o spirocheti, e ritenerli come specie od appartenenza di

(1) Miller, *Die Mikroorganismen der Mundhöhle*, etc. 1889, pag. 43-75.

specie distinta ; ma la loro affinità col *leptothrix* fu riconosciuta anche dal Zopf , il quale a questo proposito scriveva : « In taluni casi, i filamenti (del *leptothrix*), o in un dato punto, o in tutta la loro lunghezza, s'incurvano a spirale, e i frammenti di tali fibre formano le figure a *spirilli*, *vibrioni* e *spirocheti* » (1).

Il Miller stesso, ripetiamo, nel riferire gli studii da lui fatti nel 1883 sulle orme del Zopf, ammise con esso la derivazione degli spirocheti della bocca umana, da filamenti contorti di *leptothrix*, de'quali disegnò la frammentazione, nelle fig. 13 a 20 della tavola rispettiva; e, nella descrizione de' cespugli di *leptothrix gigantea* del porco (figg. 6. a 8.) e della pecora (fig. 9. a 12.), rappresentò, a fianco de'filamenti dritti, altri filamenti vibrionici e spirillici (2).

Abbiamo inoltre fatto rilevare dalle nostre osservazioni che gli spirilli o spirocheti accompagnano costantemente il *leptothrix*, anche nell'infuso di patate, nell'acqua stantia (in ambiente caldo), e più oltre diremo della loro presenza in certi fiocchetti orinari, sempre di conserva alle rigogliose vegetazioni di *leptothrix*.

FUNGHII BOCCALI PATOGENI

Chiudiamo questo breve estratto, riassumendo le nozioni che il Miller espone nel capo nono, sulle infezioni sperimentali prodotte mercè la inoculazione di alcuni microbi boccali o accidentalmente ospitanti nella bocca.

Comincia l' A. dal ricordare che la proprietà tossica della saliva era da tempo conosciuta, quando, nel 1873, il Wright e il Senator la inocularono con effetti letali. Si dubitò che l'effetto tossico dipendesse da causa chimica. Il Moriggia e il Marchiafava nel 1878, inocularono la saliva di fanciulli morti di rabbia. I primi ad attribuire l'azione tossica della saliva o degli sputi ai batterii, furono, nel 1881, il Raynaud e il Lannelongue. I conigli inoculati con la saliva di un fanciullo morto di rabbia, ne morirono; mentre riuscirono innocue le inoculazioni col sangue o col muco boccale. Il Pasteur, con la saliva medesima, vide morire due conigli; e i microbi coltivati mostrarono forma di batterii a manipoli in capsula gelatinosa. Egli allora stimò scoperta la causa dell'idrofobia; ma il Cohnheim, vista la rapidità del corso della infezione, la qualificò, non già per idrofobia, ma per setticemia.

(1) Zopf, *loc. cit.* pag. 80 e seg.

(2) Miller, articolo citato del 1883, pag. 223-24.

Dopo questi primi esperimenti, il Vulpian produsse la stessa infezione, inoculando la saliva normale; e, nel sangue degli animali inoculati, il Rochefontaine e l'Arthaud trovarono de' microbi esattamente identici ai sopraindicati. Lo Sternberg e il Claxton confermarono le osservazioni del Vulpian; ma il Griffin dimostrò che la saliva parotidea, raccolta isolatamente, è innocua, sicchè l'infezione è da imputare a prodotti secondarii di scomposizione, formati nel cavo boccale. Il Gaglio e il De Mattei ritennero il medesimo, e videro la saliva divenire innocua con la cottura.

Il Fraenkel nell'84 confermò nuovamente le osservazioni del Vulpian; trovò più recettivi i conigli, meno i topi, anche meno i porcellini d'India; refrattarii i cani, i colombi e i polli.

Il Miller ottenne identici innesti con l'escreato d'una donna affetta da micosi tonsillare; isolò in seguito da una radice carciata cinque funghi, de'quali uno chiaramente patogeno.

Il Klein ed altri studiarono l'azione tossica de' gruppi di microbi degli sputi umani; cosicchè, in questi ultimi anni, mercè le colture, vennero di mano in mano attribuite, a un numero considerevole di batterii, delle proprietà patogeniche.

Funghi patogeni non coltivabili — L'A. richiama a questo proposito il già detto de' microbi primarii della bocca, per dimostrare che, segnatamente lo *spirillum sputigenum* e lo *spirochaete dentium*, non sono coltivabili. Il Kreibohm trovò nella patina linguale due batterii patogeni, non coltivabili in alcun terreno artificiale. Il M. co' funghi d'una polpa dentaria gangrenosa, produsse un processo gangrenoso anche reinoculabile.

Funghi patogeni coltivabili—a) *Micrococco della setticemia salivare* (fig. 96^a del M.) — È lo stesso batterio che il Pasteur ed altri ottennero dagli sputi sani o patologici. Il Klein pel primo lo coltivò. Risulta di cocchi ovali, diplococchi e catene incapsulate, identiche allo *pneumococco*. Le iniezioni sottocutanee delle sue colture producono setticemia e morte in 24-36 ore; anche il sangue degli animali inoculati è infettivo in alto grado; ma l'infezione, superata una volta, non si contrae più. La virulenza viene attenuata da colture nel latte. Questo batterio (continua il M.) *abitando costantemente nella bocca umana*, passa di là ne' focolai pneumonici; per modo che la mancata nettezza della bocca sarebbe la vera condizione predisponente della polmonite, in quanto permette ai diplococchi in quistione, una volta depositi dall'aria, di moltiplicarvisi. Dalle quali vedute alle nostre, alla proliferazione affatto secondaria di tali batterii ne' prodotti pneumonici, non v'è che un passo (v. il paragrafo quarto della memoria sulla pertosse.)

b) *Bacillus crassus sputigenus* (fig. 97^a del M. dal sangue di un topo)—Questo batterio fu trovato dal Kreibohm una volta sulla patina linguale, due volte nei liquidi boccali; è più lungo che largo, non di rado più corto negli articoli più giovani; resiste al metodo del Gram; sporifica col calore. I topi, inoculati anche con piccole quantità, muoiono in 48 ore, e mostrano batterii copiosisimi nel fegato e nel sangue. I conigli resistono a iniezioni deboli; dietro iniezione intravenosa, muoiono in 48 ore. La stessa iniezione intravenosa, in gran copia, uccide in 3-10 ore i conigli e i cani, per gastroenterite.

c) *Stafilococco piogeno albo ed aureo, e streptococco piogeno*—Questi batterii, ritenuti come eccitatori della suppurazione, sono portati dallo esterno nella bocca, dove pare trovino un terreno favorevole. Il Black, in dieci saggi di liquidi boccali e raschiatura della lingua, in condizioni normali, trovò sette volte lo stafilococco piogeno aureo, quattro l' albo, tre lo streptococco; e crede si troverebbero quasi sempre, cercandoli attentamente. Altri non li trovarono così spesso. Il Vignal non trovò mai lo streptococco, di rado trovò i due stafilococchi. Il Netter, su 127 saggi, trovò solo sette volte lo stafilococco piogeno aureo. Il M. trovò anche di rado questi micrococchi.

d) *Micrococcus tetragenus* (fig. 98^a del M.) — Questo micrococco, relativamente frequente, fu trovato prima dal Koch e dal Gaffky nella caverna d' un tifico, ed è più frequente nella tubercolosi. Il Biondi lo trovò tre volte su cinque. Ha forma di cocci disposti due a due, o quattro a quattro, con interposizione di sostanza gelatinosa; non fluidifica la gelatina. I topi bianchi e i porcellini d'India, inoculati con le colture, periscono in 3-10 giorni; inoculati con gli sputi, soccombono in 4-8 giorni. Il sangue e gli organi sono inquinati da micrococchi.

Funghi del Biondi — Questo osservatore ha isolati dalla bocca cinque diversi batterii patogeni, compreso il micrococco tetragenico testè menzionato. Gli altri quattro sono: e) un *bacillus salivarius septicus*, piuttosto frequente; f) un *coccus salivarius septicus*, ottenuto in un solo caso in donna affetta da grave setticemia puerperale; g) uno *streptococcus septicus*, identico a quello della risipola, del flemmone e della metrite puerperale; h) uno *staphylococcus salivarius piogenes*, rinvenuto una volta nello sputo di un'angina scarlattinosa.

Funghi del Miller—Dietro molte colture e inoculazioni praticate co' liquidi boccali e con polpe dentarie gangrenose, il M. osservò effetti più gravi dall' inoculazione delle polpe, anche ri-

spetto a inoculazioni di colture delle polpe medesime. Gli effetti variarono ne' diversi animali, e a seconda che l'inoculazione fu fatta sotto la pelle o nel cavo peritoneale. I funghi patogeni isolati dall' A. furono: *i*) un *micrococcus gingivae pyogenes* (fig. 99^a del M.) ottenuto dalla piorrea alveolare, in cocchi non atti a liquefare la gelatina; *k*) un *bacterium gingivae pyogenes* (fig. 100^a del M.), trovato col precedente, in forma di batterii di lunghezza quadrupla della larghezza, atti a liquefare la gelatina; *l*) un *bacillus dentalis viridans* (fig. 101^a del M.), ottenuto dalle radici cariate, in batterii di forma irregolare; *m*) un *bacillus pulpae pyogenes* (fig. 102^a del M.), ottenuto dalle polpe gangrenose, in bacilli sovente irregolari, isolati, accoppiati o in catenule fino di otto articoli, atti a liquefare la gelatina (1).

Non possiamo oltre dilungarci sui cennati esperimenti di coltura; solo ci limitiamo ad osservare che gli *pneumococchi* o eccitatori della setticemia salivare, trovandosi costantemente nel contenuto boccale, sono a parer nostro, da ritenere come una delle morfe o fasi del microfita o de' microfiti primarii della bocca (*fase zooglica* del Billet). Per tutti gli altri batterii testè noverrati, rimane a vedere se sieno accidentali (provenienti cioè dallo esterno) o normali, quantunque modificati nelle loro proprietà da condizioni variabili del pabolo o dell'ambiente, e se le tante loro varietà non sieno per avventura più apparenti che specifiche.

Quanto agli esperimenti d'inoculazione, notiamo di passata un solo fatto, che, cioè, le inoculazioni sperimentali introducono sotto la pelle, o nelle cavità, o nel circolo, miliardi di batterii in un sol colpo. Un solo centigrammo di coltura o di materiale inquinato può contenere 25 miliardi, in media, di batterii, come abbiamo dimostrato altrove; e 25 miliardi inoculati ad un topo sono come 50 o 100 *trilioni* inoculati ad un uomo. Qual meraviglia se dalla irruzione subitanea di tanta colluvie di germi parasitarii, anche innocui, ne nascano effetti locali o generali? Eppure questa non è la vera quistione. La vera quistione è di sapere se i differenti tipi di batterii (forse appartenenti alla specie medesima) abbiano oppur no il potere di aggredire, *sponte* e per conto proprio, l'economia umana, e se, anche penetrandovi dall'ambiente, in numero relativamente infinitesimo (come sarebbe il caso delle comuni malattie infettive); se, diciamo, possano svolgere nella specie umana gli stessi effetti che seguono alla inoculazione de' loro elementi sui bruti.

(1) Miller, *loc. cit.* pag. 199-220.

In altri termini, altra è la recettività attraverso le aperture naturali, altra la recettività attraverso le soluzioni di continuo; altra è l'azione lenta, successiva ed esterna di pochi germi, altra quella subitanea ed interna di una colluvie di germi; altra infine è la recettività di questa o quella specie animale, altra la recettività della specie umana. E ciò, ben s'intende, a prescindere dagli altri punti più o meno disputabili del sistema, segnatamente dalla quistione: se l'azione morbigena delle inoculazioni dipenda dai batterii, come tali, o dalle sostanze inquinanti in cui sono sospesi, ovvero da' loro prodotti di segregazione o di scomposizione, come si viene argomentando oggi.

Ma, lasciando stare per ora queste quistioni, troppo più ampie e complesse che a prima giunta non paiano, veniamo senz'altro a dire della morfologia e biologia del *leptothrix* (1).

§ 4.°

Nostre osservazioni sulla morfologia e biologia del leptothrix buccalis.

LE QUATTRO FASI DEL LEPTOTHRIX, SEGNOTAMENTE LA FRUTTIFICAZIONE A SPIGHE

Prima fase — La prima fase del *leptothrix* è quella di batterio o bacillo, già descritta nella memoria sulla pertosse e nel primo paragrafo della presente: fase comune a tutte le altre specie di batterii, ma che (almeno nel *leptothrix*) non ne rappresenta l'intero ciclo di vita, bensì il semplice stato primordiale di *vegetazione immersa*, o vegetazione destinata a propagarsi ne'sostrati liquidi o semisolidi.

Seconda fase — Esaminando la patina della lingua, colorata col violetto di genziana, vi si riscontrano a preferenza le forme del secondo stadio di vita di questo parassita, quello cioè delle

(1) Ultimamente furono pubblicati due nuovi lavori su questo argomento: uno del David (*Les microbes de la bouche, précédé d'une lettre-préface de M. L. Pasteur*), semplice lavoro di compilazione; l'altro del Billet (*Contribution à l'étude de la morphologie et du développement des bactériacées*), frutto di ricerche originali sulla storia naturale di quattro specie di microorganismi (*cladothrix dichotoma*, *bacterium Balbiani*, *bacterium osteophilum* e *leptothrix parasitica*, un parassita delle alghe). Daremo a suo tempo contezza di questi lavori; avvertiamo però fin da ora che neanche questi autori accennano in menoma guisa alle *fasi superiori del leptothrix buccalis*, sul tipo da noi descritto o altrimenti.

catene e de' fasci e zolle di filamenti intrecciati. Abbiamo già detto del predominio degli epiteliî boccali in questi preparati: vi si rinvengono anche de' filamenti isolati di *leptothrix*, molti esemplari di grossi batterii a manipoli del tipo *pp* e *p'* (fig. 1^a) e cospicui coacervi di diplococchi. Anzi in questi preparati si fa manifesta la derivazione de' grossi batterii a manipoli dai diplococchi, mercè il saldamento de' due cocci originarii, tanti sono i gradi di transizione che vi si osservano. Le catene istesse sono sovente circondate da simili coacervi di diplococchi, nè vi mancano degl'intrecci del tipo *uu* (fig. 1^a).

Le catene sono de' tipi *c* e *d* (fig. 1^a), ma in generale più lunghe, fitte, talora rattorte in fasci di dodici o quindici che pigliano fino a tre campi visivi, e ritraggono esattamente la disposizione de' fasci di filamenti. In una stessa catena possono esservi alternati de' piccoli diplococchi, de' batterii ellittici e dei batterii a manipoli di mezzana grandezza, tutti mirabilmente eguali fra loro, che formano il maggior numero.

A noi non è accaduto d'incontrarvi delle fruttificazioni; sicchè questa seconda fase si può ritenere come analoga al micelio o *vegetazione*, parte *immersa*, parte *terragna*, de' funghi.

Terza fase (vegetazione aerea incompleta) — Si riscontra a preferenza nella patina de' denti. Gli elementi predominanti sono i grossi filamenti, spesso molto lunghi, rattorti e riuniti in fasci, vivamente colorabili con la soluzione iodica, e le cepaie: forme notissime, delle quali si è già parlato, a proposito delle specie primarie e secondarie del Miller, sicchè non occorre ripeterne la descrizione.

Piuttosto dobbiamo far notare talune modalità, osservabili in un certo numero di questi filamenti, quando si ha la fortuna d'incontrarli isolati (massime ne' preparati non colorati): modalità, di cui non si fa parola negli autori.

La prima è una biforcazione o triforcazione (fig. 7^a) che a noi sembra doversi riferire ad una specie di sistema radicale di questo microfita, e perchè delle divisioni non vi si scorgono giammai verso l'alto, e perchè alle volte (come in *b*) si vede, all'estremità opposta, un rigonfiamento o capitolo, cioè una forma propria delle punte volte allo insù. In *a* il filamento è spezzato verso l'alto, e presenta due lunghe radici; in *b* le radici sono tre e foggiate ad uncino; sì le une che le altre appaiono leggermente rigonfie alle estremità, a guisa di *austorii*.

Naturalmente a che servirebbero queste barbe o radici, se non ad assicurare un valido impianto sul terreno? E il valido

impianto a qual fine sarebbe ordinato, se non a sorreggere delle forme superiori di vegetazione?

L'altra modalità è quella de' rigonfiamenti che diremmo *apicali*, o capituli, poichè si trovano in punta de' filamenti rispettivi, come in *b* e in *c*; e questi sono di varia forma, talora contenenti una specie di nucleo. Ve ne sono degli altri che potrebbero dirsi *nodali*, perchè s'incontrano in un punto del tragitto del filamento; e di questi abbiamo tralasciato il disegno, non differendo le loro forme dai precedenti.

Alle ceppaie sopraccennate sono frammiste quasi tutte le forme di batterii, bacilli, spirilli ecc. oltre di un buon numero di catenule svariatisime, de' tipi *c*, *d*, *k*, *i*, *x* e *x'* (fig. 1^a).

La maggior grandezza e colorabilità di queste zolle e di queste ceppaie, rispetto ai filamenti fertili, dipenderebbe, secondo noi, da una causa naturalissima. L'attrito, portando via le punte de' filamenti e i filamenti fertili, pare induca, ne' tronchi residuali, un maggiore sviluppo, nel senso della spessezza, come avviene, ad esempio, nella potagione degli alberi, mercè la retrocessione dei succhi ascendenti. Nel caso nostro, sarebbe la retrocessione della materia germinale la causa del consecutivo incremento della guaina e delle gemmule contenute in essa. A questo modo si spiegherebbero chiaramente le apparenze, tanto diverse, delle ceppaie o dei loro frammenti, in confronto de' filamenti fruttiferi: apparenze le quali indussero il Miller a fare di questi filamenti residuali due specie distinte, sotto i nomi di *leptothrix buccalis maxima* e di *bacillus buccalis maximus*, in contrapposto ai nostri filamenti fruttiferi, formanti pel Miller una terza specie, la *leptothrix innominata*.

Resta poi a vedere se i filamenti più lunghi, rinterrati e attorcigliati, di *bacillus buccalis maximus* (fig. 13^a del M.) non concorrano con le catene sopradescritte, alla formazione di quella specie di micelio o vegetazione terragna, su cui s'imbasa la vegetazione aerea di questo microfito.

Dalle isolette delle ceppaie in esame, preparate nel modo già descritto al paragrafo secondo, spuntano in ultimo le fruttificazioni. I filamenti più grossi e diremmo legnosi, man mano si assottigliano; divengono pallidi, e il loro interno si mostra tempestato di granuli o gemmule parietali. Sono questi i filamenti fertili. Essi possono sorgere tanto da' filamenti propriamente detti, a contorni continui, quanto dalle catenule del tipo *d* (fig. 7^a), che appaiono talora in punta ai filamenti piedetti; e in quest'ultimo caso, in cambio di un assottigliamento graduato, può accadere il passaggio brusco, dalla catena al filamento fertile, come nella detta figura.

Il riscontro delle gemmule parietali non è nuovo, trovandosene menzione nel Robin, e un primo disegno nella fig. 2^a *h* del suo volume del 1853, ad un ingrandimento di 800 d. (1).

Quarta fase (vegetazione aerea completa: fruttificazione)— Nelle figg. 8^a a 11^a sono riprodotti quattro esemplari di fruttificazione, presi dalla patina de'denti. Nella fig. 8^a si veggono tre *spighe* isolate, al violetto di genziana; nella fig. 9^a un cespuglio veduto a volo d'uccello, al violetto metilico debole; nella fig. 10^a parte di altro cespuglio più rigoglioso, visto di profilo, alla fucsina debole; e nella fig. 11^a due fruttificazioni impiantate sulla stessa isoletta di *materia alba*, alla soluzione iodica. Le fig. 8^a 9^a e 11^a sono delineate all'ingrandimento di 1250 d. e la fig. 10^a a quello di 850 d.

I filamenti fertili, ora sono in parte dritti, come nella fig. 8^a ora flessuosi (talora anche rattorti, come nella fig. 11^a); ora mancano, perchè le fruttificazioni furono portate via da violenza meccanica, pur rimanendo assemblate insieme, come nella fig. 10^a. Nella fig. 8^a si veggono in *a*, *a* le gemmule di riserva aderenti alle pareti; in *b* si trovano le sporelline allagate normalmente; ma in *b'* se ne veggono cinque residuali, per esser cadute le altre. In *c* i penultimi articoli del gambo paiono più vecchi, e come legnosi; l'ultimo è finalmente granuloso, come i due articoli terminali del filamento più giovane, *d*.

Le sporelline, piccole, rotonde, vivamente colorate, si mostrano in tre file verticali, in tutti gli esemplari, senza eccezione; non appaiono, cioè, mai in due sole file; donde si dee inferire che sieno effettivamente disposte in sei ordini longitudinali, perchè se fossero in quattro o cinque file soltanto, dovrebbero qualche volta presentare due sole file visibili.

Il rilievo cilindrico delle *spighe* apparisce evidente, girando la vite micrometrica, poichè a fuoco alto si veggono meglio le sporelline della fila mediana, e a fuoco basso si veggono meglio quelle delle file laterali. In parecchi esemplari, specialmente se colorati con l'ac. pierico, il gambo si vede continuarsi nell'interno della *spiga*; non così coi colori d'anilina, i quali opacano la sostanza viscida (in cui sono impigliate le sporelline), colorandola in una tinta meno forte; ma se, ne' preparati, si fa subentrare all'acqua la glicerina, il gambo, dopo lungo tempo, riapparisce distinto fino alla punta (v. oltre). Che, del resto, il gambo e la *spiga* formino un tutto continuo, lo dimostrano i movimenti im-

(1) Robin, *Hist. nat. des végétaux*, etc. 1853 (v. la Bibliografia).

pressi al preparato, coi pollici: si veggono allora le *spighe* oscillare in cima ai gambi, come le spighe in un campo di frumento.

Si potrà obiettare che le sporelline non sono immediatamente impiantate sul gambo o filamento fertile, bensì ne distano alquanto; ma si deve considerare che la distanza tra le sporelline e il filamento interno non è, in realtà, maggiore di quella che si vede costantemente fra gli articoli delle singole catene di batterii, che pure sappiamo per certa scienza essere germinati l'uno dall'altro. Forse vi ha tra loro una connessione, mercè fili o legamenti, invisibili co' mezzi attuali (1).

Non si può neanche supporre che le sporelline sieno semplicemente addossate al filamento, per apposizione dallo esterno (dovuta all'allettamento o interrimento, per così dire, de' filamenti istessi dentro delle zolle granulose), perchè una semplice incrostazione meccanica non darebbe ragione dell'allineamento regolare delle sporelline in sei ordini longitudinali, nè della perfetta eguaglianza nel volume e nella forma di esse. L'incrostazione porterebbe un intruglio di cocchi e di batterii, di tipo e grandezza diversa, irregolarmente commisti; oltrechè vedremo più oltre prodursi di codeste *spighe* (ed anche più cospicue) negli espettorati, senza traccia alcuna di letto o zolla granulosa, in cui i filamenti abbiano potuto incrostarsi dal di fuori.

La lunghezza delle *spighe* è non di rado considerevole, massime in quelle staccate dalla matrice, le quali col loro gambo occupano talvolta l'intero campo visivo. Gli esemplari più cospicui (fig. 14^a) li trovammo nello sputo pulmonitico, dove i più lunghi misuravano un'altezza reale di 1¼6 di millimetro, equi-

(1) Quando presentammo l'attuale memoria, promettevamo qui in nota di riprendere lo studio delle *spighe* in disamina, con delle oggettive più forti. Ora i sigg. Bézu, Hausser e C.^{ia} di Parigi, successori della ditta Hartnack e Prazmowski, sono riusciti a costruire una nuova oggettiva a immersione omogenea, di 1¼25 di pollice. Con questa preziosa oggettiva siamo già arrivati a discernere, nella maniera la più evidente, i peduncoli o fili d'impianto delle sporelline sul fusto principale. Col nuovo gran modello (n. VII) de' medesimi ottici, munito di un condensatore Abbe dell'apertura numerica di 1,40, a luce obliqua, girando il tavolino del microscopio, oppure sostituendo un diaframma a fondo nero all'ordinario diaframma a iride, si conferma appieno la disposizione delle sporelline sopra sei ordini longitudinali. Torneremo su questo argomento in altra comunicazione; ma fin da ora ci sembra che, alla denominazione primitivamente proposta di *spighe*, sarebbe forse preferibile quella di *racemi* o *grappoli* (per dinotare le fruttificazioni del *leptothrix*), chè tali sono veramente.

valente ad una volta e mezza lo spessore di un coprioggetti calibrato, come nelle due *spighe* *f*, *g*, della figura citata.

La colorazione delle *spighe* in parola al carminio, anche protratta per settimane intere in un vetro d'oriuolo, non ci diede risultati soddisfacenti. Col violetto metilico gli esemplari appaiono meno trasparenti; nel resto non differiscono da quelli trattati col violetto di genziana. Se ne osserva uno nella fig. 9^a veduto a volo d'uccello, nel quale, cioè, le *spighe* sono dirette secondo l'asse ottico. Con la fucsina si ottengono le più belle e sorprendenti colorazioni, come lo mostra l'esemplare colto di profilo, rappresentato nella fig. 10^a dopo una imbibizione di qualche minuto.

Nelle preparazioni non colorate, le *spighe* sono poco o niente distinte, per modo che non si rivelerebbero affatto a chi ne ignorasse l'esistenza, per la ragione che le sporelline, allo stato naturale, sono trasparenti e quasi invisibili; ma per chi le conosce, anche questi preparati riescono utili, in quanto permettono di scorgere, ai lembi delle zolle, un numero molto maggiore di *spighe*, appunto perchè queste non furono sciupate o portate via dai maneggi (inevitabili nelle colorazioni), nè indurite e, perciò stesso, rese più fragili.

La cedevolezza delle *spighe*, del resto, si conserva anche nelle colorazioni con la soluzione iodica non acidulata, o con l'ac. picrico. Le sporelline spiccano abbastanza nella soluzione iodica (fig. 11^a); ma con l'ac. picrico la colorazione riesce diffusa e sbiadita nello stesso tempo; se non che la tinta sbiadita riesce utile a sua volta a rendere visibile un gran numero di fruttificazioni contemporaneamente, senza che l'una opachi l'altra.

Qui vorremmo fermarci un poco a considerare la forte affinità delle sporelline predette pe' colori d'anilina: affinità che le ravvicinerebbe ai così detti bacilli tubercolari, a tal punto da far sospettare una derivazione de'singoli articoli di tai bacilli dalle sporelline istesse, prima cadute, poi trapiantate negli epiteli boccali e nelle vie aeree, e quivi cresciute in serie lineare, a guisa di coroncine. C'indusse in tale supposizione il seguente fatto. Nelle colorazioni della patina dentaria alla fucsina, che durano pochissimo tempo, rimane incolore la porzione centrale di molte zolle. Ora quale non fu la nostra sorpresa, al vedere, in questi campi incolori, comparire, a capo di qualche tempo, delle minute lineette rosse, in tutto simili ai bacilli tubercolari? Se non che le lineette colorate man mano ingrandirono, s' allargarono, e vedemmo gradatamente disegnarsi le sommità delle *spighe* prima invisibili, come tante elevatelle vivamente colorate, in campo chiaro: fatto da riferirsi alla ulteriore penetrazione della materia colorante.

Oltre i bacilli del Koch a coroncine, se ne ammettono altri a bastoncini o filamenti contenenti granuli o vacuoli, come nella fig. 1^a della citata opera di Cornil e Babes, ecc. Questi bastoncini sono a preferenza discernibili col metodo del Gram, cioè con la colorazione doppia, prima al violetto di genziana, poi alla soluzione iodica. Ora i frammenti e i fusti esili del *leptothrix*, nella patina dentaria, si comportano egualmente. Se si adopera prima la soluzione iodica, la colorazione successiva al violetto di genziana non riesce; ma se si colora prima al violetto, nel modo consueto, si monta il preparato allo stato fresco e poi vi si fa penetrare per capillarità la soluzione iodica, la colorazione, di violetto, si cambia in turchino brunoastro, e i bastoncini del *leptothrix* si rendono spiccatissimi.

Ma delle varie quistioni attinenti alla colorazione e alla ricognizione de' bacilli tubercolari, non intendiamo ora intrattenerci di proposito, riserbando ad altra occasione.

PRODUZIONI A *punte* (*organi copulatori* ?)

Dicemmo altrove che tali produzioni o pseudo inflorescenze sono in numero scarso, talchè bisogna andarle cercando pazientemente nel preparato; hanno però il vantaggio di potersi distinguere benissimo, anche senza colorazione. Fa d'uopo assolutamente prendere la patina dentaria a stomaco digiuno e in persone non use a forbire i denti; altrimenti si rischia di non trovare alcuna di queste produzioni. Non bisogna schiacciare di molto il preparato, altrimenti le produzioni si disgregano; esse si riconoscono abbastanza bene, anche con un'oggettiva n. 8 di Hartnack. Le difficoltà sopraccennate spiegano abbastanza perchè siffatte forme non furono rilevate dai precedenti osservatori.

Nella fig. 12^a sono delineate tre di queste produzioni, prese dalla patina de' denti, allo stato naturale e all'ingrandimento di 690 d. In *a* la produzione sorge sopra un gambo multiplo, composto da un fascetto di filamenti apparentemente discontinui; il gambo istesso è irto di piccole punte presso alla triforcazione; i tre rametti, ne' quali si divide, portano punte più lunghe, fino alla sommità; ma quello a destra si suddivide a sua volta in due ramuli secondari. In *b* è disegnata una pseudo inflorescenza isolata, tutta a piccole punte o mezzane, come i rametti dell'esemplare precedente: in *c* invece si vede una produzione spezzata in cima, composta di punte piccole, mezzane e grandi: le piccole, simili

alle precedenti, le grandi, in tutto simili ai bacilli appuntati e fusati del tipo *e* (fig. 3^a), de'quali, a titolo di confronto, ne abbiamo riprodotto uno allo stato naturale, in *d* (fig. 12^a), all'ingrandimento di 1250 d. Delle punte piccole, la più parte rassomiglia ai bacilli virgolati del tipo *h* (fig. 3^a); alcune però ritraggono, come dicemmo, la sembianza di spermatozoidi del tipo *h'* (medesima figura), con una delle estremità rigonfia a foggia di capitolo, fatta ragione, bene inteso, del diverso grado di amplificazione.

Nella fig. 13^a si vede come una parte d'un rametto, colorata con la soluzione iodica, all'ingrandimento di 2500 d. Vi sono impiantate delle *punte* di grandezza e forma diversa, che, al pari del bastoncino centrale, contengono degli spazii chiari o vacuoli incolori. Se non fosse una supposizione troppo arrischiata, si sarebbe tentati a dire che le tre piccole *punte* non sieno aderenti al bastoncino centrale, ma stieno compiendo sopr'esso, e fors'anche sul bacillo che gli aderisce in basso, un *quid simile* all'atto della fecondazione.

Non è nostra pretesa, ripetiamo, recar sentenza della natura di siffatte produzioni a *punte*, o pseudo inflorescenze, essendo materia devoluta al giudizio de' micetologi. Non abbiamo inteso far altro che descrivere i fatti, quali ci risultano dalla osservazione: non possiamo, tuttavia, tralasciare di fermarci per poco sulla mobilità veramente straordinaria che presentano le predette *punte*, grandi e piccole, cadute che sieno dai rami o steli sopra descritti.

I movimenti in parola si osservano meglio ne' preparati senza colorazione, montati in semplice acqua distillata, e vi si conservano per più lungo tempo (anche da un giorno all'altro), massime ne' piccoli bacilli virgolati; ragione per cui, a chi vorrà verificare questa parte delle nostre osservazioni, raccomandiamo di non adoperare alcuna tinta. I mezzi coloranti, massime i colori di anilina, pare spieghino un'azione tossica sui detti bacilli o per lo meno un'azione torpente sulla loro motilità. I movimenti poi sono a preferenza traslatorii ne' bacilli maggiori o fusati, del tipo *d* (fig. 12^a), in guisa da giustificare appieno la denominazione di *bacillus tremulus* data loro dal Rappin, se non implicasse una entità specifica separata. Si veggono questi bacilli non solo oscillare lateralmente, ondulando, a modo de' pesci, ma guizzare qua e là, con moto rapido di traslazione, urtando prima in una, poi (dopo breve sosta) in un'altra isoletta, o scappando fuori del campo visivo. Ne' quali movimenti è impossibile non ravvisare il carattere di movimenti vitali non solo, ma o volontari, o teleologici; ed esclusa la prima ipotesi, che ci rimenerebbe agli *animalculi* del Leeuwenhoek, del Ficinus

e del Klencke, non resta che una *intenzionalità esterna ai bacilli istessi*, la quale miri al compimento d'una funzione. Questa funzione non può non essere delle più importanti, visto che i moti predetti sono la più elevata e persistente manifestazione di vita che presentino i microbi della bocca. Ora qual' altra funzione importante potrebbero compiere que' movimenti, se non la funzione copulatrice? (1).

I movimenti de' bacilli virgolati del tipo *h* (fig. 3^a) sono a preferenza ondulatorii e serpentinii, ma non privi di effetto traslatorio, come si è già detto nel paragrafo secondo.

Fino a prova contraria, è supponibile, in conclusione, che codeste *punte*, o bacilli che vogliam dirsi, compiano una funzione analoga a quella degli *spermazii* o *anterozoidi* di varii funghi ed alghe. Nella quale ipotesi resterebbe appieno spiegata la sterilità assoluta delle loro colture, essendo ben naturale (come vedemmo) che de' semplici organi copulatori maschili non sieno abili a moltiplicarsi per conto proprio. Resta poi a vedere se tali produzioni a *punte* abbiano attinenza col bacillo *n* (fig. 1^a a sinistra e in basso): grosso bacillo venato per lo lungo, che contiene, come in germe, de' sottili e corti bacilli lineari verso l'estremo inferiore, cotalechè si sarebbe tentati ad assomigliarlo ad uno *spermogonio* od *anteridio* (2).

Finqui abbiamo parlato delle produzioni a *punte*, nella loro fase, che diremmo adulta; ma, accanto a queste forme più sviluppate, ve ne sono delle altre, parimenti sostenute da uno o più fusti interni, e rivestite esternamente da una moltitudine di minutissimi *germi lineari*, molto simili a quelli contenuti internamente in *n* (fig. predetta). Tali germi lineari, impiantati a squadra sui fusti, hanno tutta l'aria di bacilli fusati o serpentinii e di virgole in formazione, cosicchè il loro insieme si può considerare come un primo stadio delle pseudo inflorescenze o produzioni a *punte*, già descritte. Nella tavola abbiamo dovuto trasandarne la

(1) Nel citato articolo del Dowdeswell, troviamo, con nostra sorpresa, revocata in dubbio la natura (se vegetale o animale) delle virgole del colera (v. *Lancet*, 1890, vol. I, *loc. cit.* pag. 1422).

(2) I bacilli fusati e virgolati della bocca, per forma e grandezza, somigliano moltissimo agli *spermazii* della *sphaerella sentina* o nebbia del pero, della *fumago salicina* o mal del nero, dell' *apiosporium citri* o cenere degli agrumi, etc. Gli *spermazii* furono ritenuti come organi copulatori, fino al 1877, quando il Cornu ne vide alcuni germinare per conto proprio, sicchè la loro natura sarebbe ancora incerta.

rappresentazione grafica, per la difficoltà di darne un'immagine abbastanza fedele.

Veniamo ora a dire della riproduzione della fruttificazione a *spighe* negli espettorati.

FRUTTIFICAZIONE A *spighe* RIPRODOTTA NELL'ESPEKTORATO

Finora non si son potute ottenere delle colture del *leptothrix* e de'microbi della bocca in generale, sui terreni artificiali consueti; e in questa sentenza cadono d'accordo gli autori, da Cornil e Babes ai più recenti (1). Non sarà dunque inopportuno riferire un caso di fruttificazione a *spighe*, riprodotta in un espettorato, che ci fu di ultima spinta alla presente comunicazione.

La presenza di filamenti isolati o intrecci di *leptothrix* negli espettorati, è cosa notissima a quanti si occupano di microscopia clinica. Leyden e Jaffé annisero perfino un *leptothrix pulmonaris*; e l'Hunter Mackenzie ne reca un vistoso esemplare, tolto da uno sputo tubercolare, in tempo di euforia (2). Nel sedimento delle masse di spui, emulsionate con la potassa, si trovano non solo bastoncini e filamenti, ma anche numerosi ciuffi di questo parassita. Ricordiamo eziandio di avere più volte incontrati, negli sputi d'ogni genere colorati a fresco, de'frammenti che per lo passato non sapevamo dire cosa mai fossero, ed erano avanzi di *spighe*, sciupate nella preparazione.

Il caso che ci fornì il cospicuo esemplare delineato nella fig. 14^a fu il seguente.

Il signor G. F. di anni 41, già due volte attaccato da infezione miasmatica ostinata, e una volta da processo acuto delle vie aeree, di cui non rammenta la natura, ammalava nel marzo ultimo, con febbre altissima (da 40° 6 a 41° 2 nelle ore della sera), remittente di circa un grado al mattino; con grave dispnea (da 45 a 50 respirazioni al minuto) e frequenza grandissima di polsi (135-145). Sul torace non si rilevava altro che una diminuzione di sonorità all'apice destro, con murmure respiratorio indeterminato. Rari colpi di tosse, con rara e insignificante espettorazione. Tumore di milza (alla percussione), ma probabilmente cronico. Sensorio illeso; qualche po' di epistassi insignificante; diarrea biliosa notevole. Albumina un grammo e mezzo per ogni litro di urina, con rari cilindri ialini o granulosi; pigmenti urinarii in aumento.

(1) Cornil e Babes, op. cit. pag. 135.

(2) Leyden e Jaffé, *Deutsches Archiv für Med.* II, pag. 488. Hunter Mackenzie, *Le crachat* etc. trad. Paris, 1888, fig. 22^a.

Ne' primi giorni vi fu qualche espuizione sospetta , che andò perduta , e si ritenne reflua dal naso. Sopraggiunse una eruzione di *herpes labialis* (che però ricordiamo averci tratto in inganno in un caso di ileo tifo). Tuttavia si accampò la diagnosi anche qui d'ileo tifo, e si diedero perfino tre bagni , che però riuscirono di notevole sollievo. Fatto sta che , al settimo giorno , la febbre subitaneamente cadde, come suol fare nelle pulmoniti. Rimase la dispnea , diminuita soltanto della quota dovuta alla febbre , e si ebbero, per un giorno e mezzo, degli scarsi espettorati rugginosi, uno de'quali, spogliato al possibile di saliva, fu da noi tolto ad esaminare, allo scopo di accertare la sua provenienza dalle vie aeree.

La diagnosi fu anche meglio acclarata dalla tardiva apparizione di rantoli crepitanti e d'un rumore di sfregamento sincrono ai battiti cardiaci (sfregamento pleuro pericardico del Wintrich), che si protrasse fino al sedicesimo giorno di malattia. È un fenomeno che altra volta abbiamo riscontrato nella pleurite o nel granuloma pleurico , ma a sinistra ; qui invece lo si udiva a destra sulla linea parasternale , e in basso fin verso la mammillare. La grave dispnea, dunque, era stata l'esponente di una diffusione di processo al rivestimento pleurico del pericardio e forse ad una porzione limitata del pericardio istesso.

Del rimanente gli esempi di grande sproporzione, tra l'estensione de'fatti locali e l'imponenza de'fatti generali, non sono rari, massime nelle pulmoniti dell'apice.

Gli elementi riscontrati nell'espettorato furono i seguenti: buon numero di corpuscoli rossi del sangue, isolati o in piccoli coacervi; qua e là numerosi assembramenti di epiteli ellissoidali (altrimenti detti alveolari), i più, smaltati di granuli mielini, con alcune particelle libere di mielina; molti epiteli cilindrici e vibratili delle vie aeree ; i soliti epiteli boccali ; alcune esili e brevi spirali del Curschmann; miriadi di *pneumococchi* non capsulati, la più parte in vasti cumoli, rari gruppetti classici di *pneumococchi* incapsulati, sul tipo della fig. 2^a f; diverse altre forme di batterii e bacilli ; filamenti ed anche qualche ciuffo di *leptothrix* ; gruppi e vasti cumoli di spore e talli di oidio (*oidium lactis*?).

Siccome abbiamo l'abitudine di serbare gli sputi, anche per settimane intere, per reitarvi le ricerche, al settimo giorno dalla raccolta di questo espettorato , ci accadde d'incontrarvi de' frammenti di fruttificazioni , che per fortuna questa volta potemmo esattamente riconoscere. Ci sorse allora il pensiero di asportare una particella della patina di sputo, rimasta aderente alla parete interna del tubolo, da quella banda sulla quale l'avevamo sempre

inclinato, nell'attingervi i saggi. Lo strato del muco era ivi molto sottile, e sempre umido, stando accuratamente chiuso il tubolino. Questa patina mucosa, rimasta più giorni aderente ed immobile, doveva presso a poco ritenere le stesse condizioni favorevoli alla fruttificazione del *leptothrix*, che si verificano sulla patina dei denti. Lo stratinolo attaccato al tubolo ci esibiva infatti ad occhio nudo un'apparenza opaca, leggermente grigiastria, come per muffa esilissima.

Il risultato di tale ricerca non poteva essere più soddisfacente, come lo mostra la figura 14^a. Tale figura abbraccia due campi visivi (ingrandimento di 850 d.), e la colorazione delle *spighe* al violetto di genziana è vivissima, essendo stata la particella dell'espessorato immersa a fresco nella tinta per due ore, poi lavata e montata in acqua distillata. A primo colpo d'occhio si scorge che il cespuglio delle *spighe* è stato smembrato in due gruppi; l'uno superiore *A*, nel quale sono conservati quasi tutti i gambi, l'altro inferiore *B*, i cui gambi, salvo cinque, mancano. Le fruttificazioni o parti di fruttificazione e i gambi mancanti, si ritrovavano sparsi qua e là, percorrendo i campi visivi circostanti. Il gruppo inferiore *B*, è stato colpito di fianco dal coprioggetti, e perciò giace tutto di profilo, in un medesimo verso, con la base in basso; invece il gruppo superiore *A*, è stato colpito dal coprioggetti verticalmente; si è per conseguenza aperto e divaricato in due, per la pressione del medesimo: cosicchè presenta cinque steli superiori con la base al basso e due steli inferiori, *f*, *g*, con la base in alto.

De' gambi, il più voluminoso, *a*, mostra più distinte le gemmule di riserva; queste poi si scorgono meglio in *a'*, dove è riprodotta una parte di esso gambo, all'ingrandimento di 2500 d. dopo lunga imbibizione nella glicerina (v. oltre). In *b* la *spiga* è disgregata parzialmente, in guisa che ne rimangono delle sporelline ancora in sito, lasciando l'intero gambo visibile. In *d* ed *e* si veggono de' cumoli di sporelline, ne' punti dove le *spighe* vennero parzialmente disgregate e le sporelline tratte dall'urto, in direzione della punta, lasciando denudato il resto del gambo verso il punto d'impianto. In *c* la *spiga* è rotta, e mostra una sezione netta, mancandone tutta la parte superiore.

Nella patina dentaria non ci sono mai capitate delle *spighe* sì lunghe e sì complete. Infatti le due *spighe* meglio conservate, rivolte al basso, in *f* e in *g*, sono le più lunghe di quante ne abbiamo finora osservate, quella in *f* misurando 166 μ , ossia 1/6 di millimetro; il che risponde ad una volta e mezzo lo spessore di un coprioggetti calibrato, di nove al millimetro. Il numero delle

sporelline portate da una di queste *spighe* (sopra sei ordini longitudinali) si può calcolare al minimo di 720.

Qui si porgono spontanee due riflessioni. La prima si è che un simile esemplare di fruttificazione non si può supporre preformato sui denti, poi caduto nell' espectorato con la saliva, e quivi rinvenuto di seconda mano ; poichè , ripetiamo , nella patina dei denti le fruttificazioni non crescono a tanta altezza , nè , d' altra parte , si comprende come , nel lungo tramestio , dalla bocca al piatto , da questo al tubolo e dal tubolo al preparato , avessero potuto rimanere così bene unite in cespuglio. Il punto sul quale furono rinvenute , e il tempo , inducono piuttosto a credere che fossero proprio germinate sullo stratolino di muco aderente da più giorni al tubolo, da germi o da filamenti, ivi soffermati e convenientemente alimentati dal materiale istesso dello sputo.

Lasciamo da parte la considerazione se in questo caso la presenza di corpuscoli rossi del sangue abbia potuto favorire lo sviluppo di queste *spighe*; certo, nella patina dentaria , esse si trovano più numerose in quelli che soffrono di leggero stomacace, ed hanno i denti un po' impiestrati da esalazione sanguigna , allo svegliarsi.

La seconda riflessione si è che l'esemplare in discorso vale a dissipare qualunque dubbio sulla natura delle *spighe* descritte. Stando ai soli esemplari forniti dalla patina dentaria, si potrebbe in qualche parte rimanere ancora in dubbio. Nella patina dentaria, infatti, le *spighe* sono in buona parte come allettate o interrate nelle zolle granulose e negl'intrecci di filamenti, a causa della pressione delle labbra o della lingua; e (abbiamo già detto) si potrebbe supporre che esse non fossero se non un risultato meccanico dell'allettamento, dell'apposizione cioè di minuti cocci intorno intorno ai tralci, in guisa che questi ne rimanessero incrostati. Ma (a prescindere dalle considerazioni precedenti, che l'incrostazione, cioè, non ispiegherebbe la perfetta eguaglianza delle sporelline, nè la loro disposizione costante in sei ordini longitudinali), l'esemplare della fig. 14^a viene ad escludere ricisamente qualsiasi dubbio ; troppo essendo ivi evidente l'impronta di una vera e propria virtù germinativa, nè essendovi, d'altronde, traccia alcuna di letto o di strame, nel quale gli steli avessero potuto incrostarsi meccanicamente.

A conferma di questo giudizio sta anche la solidità che tali *spighe* acquistano per la colorazione con le aniline, di guisa che difficilmente sono poi disgregabili. Ne avemmo una prova nell' esemplare in discorso, il quale ebbe a soffrire una brusca compre-

sione, per lo schiacciamento del preparato, in un falso movimento impresso alla vite micrometrica dal disegnatore. La *spiga* disegnata in *g* venne bruscamente spostata verso *f* e ripiegata a spirale sopra sè stessa; ma in quest'atto, nessuna sporellina se ne staccò, e la *spiga*, con l'andar del tempo, è venuta ripigliando la giacitura e la forma di prima. Ora questo fatto non si spiegherebbe troppo, nella ipotesi della semplice incrostazione meccanica.

Questo preparato è stato conservato nella glicerina, sostituitavi dopo varii giorni al veicolo acquoso. La tinta, segnatamente degli *pneumococchi* privi di alone, è molto sbiadita per l'osmosi provocata dalla glicerina; le *spighe* mostrarono, dopo oltre due mesi d'imbibizione, una parziale decolorazione e un avvizzimento delle sporelline, e per lo contrario una tinta più spiccata de' fusti interni. La materia viscosa si è resa più pallida e trasparente, per modo che i fusti sono ora appieno visibili, fino in punta; e dentro vi si scorgono, non pure le gemmule, ma un accenno di piccoli nodi, come si vede in *a'*. Girando la vite micrometrica, si riesce benanche a vedere, quantunque interrottamente, alcune delle sporelline appartenenti alle serie posteriori, ossia giacenti dalla parte del portaoggetti.

In conclusione, ci sembra addirittura impossibile, dopo lo studio protratto di questo preparato, impugnare la natura di vera fruttificazione di queste forme del *leptothrix* e la fertilità de' loro steli. Il preparato è a disposizione di chiunque lo voglia esaminare.

Della fruttificazione ottenuta in taluni muchi orinarii diremo di qui a poco.

Tornando alle forme oidiche rinvenute in questo espectorato, ci rimane a dir due parole della loro fruttificazione. Altra volta ci siamo intrattenuti sopra un argomento analogo (v. la memoria precedente), ed abbiamo parlato della coltura su bucce di limone ed altri materiali nutritizii; ma abbiamo trovato poi espediente lasciar fruttificare i funghi dello sputo nello sputo istesso, e ce ne siamo trovati assai meglio. Certo nessun terreno di coltura è da preferire a quello in cui le spore e i tralci compiono la loro vegetazione immersa; ma, perchè la vegetazione aerea possa aver luogo, occorrono due condizioni. Prima condizione si è che il materiale di coltura (in questo caso, lo sputo) si dissecchi moderatamente alla superficie; seconda condizione, che il sottosuolo, ossia lo strato più profondo dello sputo, rimanga umido o semifluido, per alimentare la vegetazione. Ora ambedue queste condizioni si adempiono, ponendo una parte dello sputo carico di spore e di talli, nel fondo d'un bicchierino a cono tronco, cioè col fondo

piano o leggermente concavo, in guisa che lo strato dello sputo vi occupi una larghezza sufficiente e un'altezza di 4 o 5 millimetri. Il bicchierino e il suo coverchio anche di vetro, debbono essere espurgati preventivamente con l'ac. solforico e lavati con l'alcool. Lo svasamento in alto del bicchierino permette di osservare comodamente le fruttificazioni e di abraderle, al tempo voluto, per sottoporle all'osservazione microscopica. La fruttificazione d'ordinario si compie al quarto giorno, tenendo il bicchierino al coperto, nell'oscurità, entro un armadio.

Lo sputo carico delle predette forme oidiche ci diede, al quarto giorno, una semplice fruttificazione di *penicillium glaucum*. Con questo, non intendiamo, naturalmente, impegnarci nella quistione proposta dallo Hallier, se le forme oidiche, cioè, non sieno che una delle fasi de' generi *penicillium* e *mucor*.

DISSEMINAZIONE DE' MICROBI SOPRADESCRITTI NEGLI ORGANI RETROSTANTI

Considerando ora la estesa vegetazione e fruttificazione del *leptothrix* sulla superficie dentaria, a strati sovrapposti; la sua vegetazione sulla lingua, la sua stabile dimora negli epiteli della cavità orale e faringea; la sua moltiplicazione attivissima nella saliva; gli sciami innumerevoli di forme analoghe dimoranti o moltiplicantisi, in tutta la vasta superficie delle fosse nasali e forse delle loro appendici; considerando inoltre la fecondità straordinaria di questo parassita, e la sua moltiplicazione non solamente per scissione de' cocci o batterii, ma per fruttificazione e per gemmulazione dentro i filamenti, possiamo formarci approssimativamente un'idea della moltitudine de' germi o degli elementi sparpagliati che ne promanano verso le vie digestive, aeree e lagrimali.

Secondo i nostri calcoli, non meno di *due a trecento trilion*i di germi o di elementi staccati sono complessivamente disponibili, in ogni istante, nella bocca e nel naso, ed atti a disseminare, di minuto in minuto, la specie nelle vie retrostanti.

Infatti, comparando le singole sporelline delle *spighe* ai singoli batterii a manipoli de' tipi *a, b, c, d* (fig. 1^a), dovremo collocare approssimativamente otto sporelline, in due file, sulla superficie di un solo batterio, per arrivare a coprirla. Lo spessore del batterio è il doppio di quello della sporellina; avremo dunque il volume di un batterio equivalente per lo meno a quello di 16 sporelline. Ora, nella nostra prima memoria, abbiamo dimostrato che occorrono per lo meno 25 miliardi di batterii de' tipi *a, b, c, d*, per formare il peso d'un centigrammo; dunque, per un centigrammo

di sporelline, occorrerà moltiplicare i 25 miliardi per 16, il che dà *400 miliardi di sporelline per centigrammo*.

Calcolando ora il numero grandissimo di tali sporelline cadute, quello delle gemmule di riserva ne'filamenti, quello de'granuli anche più minuti che compongono il letto de'cespugli e delle zolle di *leptothrix*; calcolando i minutissimi germi lineari impiantati sulle giovani produzioni a *punte*, possiamo comodamente ritenere che la loro estrema esiguità compensi il maggior volume de' batterii inclusi ne'filamenti più vecchi, quello de' bacilli fusati, virgolati o serpentinati, degli spirilli e de'cocchi disseminati da ogni parte. Ritenuto così il volume della sporellina come unità di misura; ritenuta l'intera patina de' trentadue denti almeno equivalente ad un grammo, avremo il numero degli elementi e de'germi viventi sulla superficie dentaria, eguale al prodotto di 400 miliardi (cifra rispondente a un centigrammo) per 100, cioè di *40 triloni*.

A questa cifra bisogna aggiungere la vasta congerie de'germi ed elementi sparsi nella saliva, la quale deve ritenersi, almeno per un terzo, costituita da microbi: *ut tota aqua vivere videatur*, scriveva fin dai suoi tempi il Leeuwenhoek. La quantità di saliva, che irrori e spalma continuamente la bocca, non è certo inferiore ad otto o dieci grammi; quindi abbiamo altri tre grammi di germi ed elementi, che si ragguaglierebbero ad altri *120 triloni*.

Ma non vogliamo infastidire più oltre il lettore, rifacendo i calcoli degli altri germi ed elementi che si annidano sulla lingua, nella mucosa orale e faringea, nelle fosse nasali e nel muco che le spalma; dai quali risulterebbe che la cifra complessiva di *due* in *trecento triloni*, da noi enunciata, non è punto esagerata. E si noti che il nostro punto di partenza è stata una media di 25 miliardi di batterii per centigrammo: cifra 12 volte inferiore a quella calcolata dal Naegeli, di *30 miliardi per milligrammo*, che porterebbe la congerie de'germi ed elementi naso boccali ad *oltre 2 o 3 quadrilioni*.

Bisogna considerare inoltre che il *leptothrix* alberga, come abbiamo veduto, anche nella bocca de' mammiferi domestici. Ora i mocci, le bave, le urine, il fiato, le fecce di questi animali, unitamente a quelle degli uomini, costituiscono, nel loro insieme, un vivaio immenso; poichè tutto induce a credere che moltissimi, fra i germi ed elementi del *leptothrix*, passino ancor vivi nelle fecce. Di qui una diffusione incalcolabile, nell'aria, nelle acque, nel suolo, massime nelle città popolate. Qual maraviglia, dunque, che il Peronecchio abbia trovato sì gran numero di batterii nella polvere delle

strade? Piuttosto è da presumere che tali disseminazioni de' microbi boccali costituiscano come una nube, da non lasciar luogo, se non difficilmente, alla intrusione di altri germi di esterna provenienza.

Ma torniamo alla disseminazione del *leptothrix* negli organi interni della economia.

Quanto alle vie digestive, il numero degli elementi convogliati dalla saliva deve essere favoloso, se si considera che se ne trovano a miriadi nella più piccola gocciolina di questo liquido. Nè è presumibile che la loro discesa nello stomaco debba riuscire indifferente alla digestione. L'idea della loro partecipazione alla trasformazione degli alimenti non è nuova; rimonta anzi allo Hallier, il quale li reputò *necessarii* alla trasformazione, segnatamente delle sostanze amilacee, non solo nello stomaco ma anche nella bocca istessa (1). Il Béchamp assomigliò la trasformazione del saccarosio, in presenza de'suoi *microzimi*, a quella della fecola per opera della diastasi (2). Il Warkmann ritenne tale azione anche per l'amido, ed opinò che da' batterii venisse segregato un vero fermento diastatico, addetto alla trasformazione dell'amido in glucosio, quantunque non atto a peptonizzare gli albuminoidi (3). Ma posteriormente altri riconobbero ne' batterii boccali anche tale azione peptonizzante, e il Miller la ritiene eguale a quella stessa della pepsina, anche senza il concorso degli acidi (4).

Un grandissimo numero degli stessi germi ed elementi della bocca, di conserva a quelli del naso, viene in ogni atto d'inspirazione, balestrato nel lume interno delle vie aeree, come lo mostra la quotidiana osservazione degli espettorati degli uomini sani (v. la memoria precedente). Ivi i germi ed elementi predetti attecchiscono e si moltiplicano nel muco bronchiale, tracheale e laringeo, come lo dimostra, fra l'altro, la fruttificazione testè descritta nell'espet-

(1) Richter, monografia citata nella Bibliografia, parte I, sezione B, 2).

(2) Béchamp, *Les microzymas et les zymases*, Arch. de physiol. 1883. Lo stesso, *La salive, la sialozymase, et les organismes buccaux*, etc. (v. Bibliografia) 1883.

(3) Warkmann, *Untersuch. über das diastatische Ferment der Bacterien* (*Zeitschrift für phys. Chemie*, Bd VI, 1883).

(4) V. tra l'altro, Bufalini, Dell' azione peptonizzante de' batterii (*Giornale internaz. delle sc. mediche*, 1883). Miller, *Ueber Gährungsvorgänge im Verdauungstractus und die dabei betheiligten Spaltpilze* (*Deut. m. Woch.* 1885, No. 49). Lo stesso, *Die Mikroorganismen der Mundhöhle* (v. Bibliografia), pag. 77-90, dove tratta partitamente dell'azione fermentativa de' microbi boccali sugli idrati di carbonio, sugli albuminoidi e sui grassi.

torato pulmonitico, che rivela quanto simil terreno sia adatto alla vegetazione del *leptothrix*.

Il Shingleton Smith, nella citata lettura sul contagio vivo, si fa a considerare in prima la facoltà ritentiva del muco pe' batterii, la quale fa sì che essi non tornino al di fuori con l'aria espirata, bensì mediante l'azione ciliare degli epiteli che li rimanda al di fuori insieme col muco. Ciò a rispetto de' batterii patogeni, ma *a fortiori* deve dirsi lo stesso de' microbi normali. Il citato autore ricorda all' uopo gli esperimenti del Tyndal, il quale trovò l'aria espirata assolutamente priva di particelle capaci di riflettere la luce elettrica, non che le osservazioni del Lister e di altri, i quali ritennero non esservi batterii nel pus dell'empima con pneumotorace, quando l'apertura alla superficie polmonare sia piccolissima. Il che dinoterebbe essere trattenuti i microbi dal muco irrorante i tubi aerei maggiori, dove c'è la barriera protettiva degli epiteli; ma non potere essi raggiungere i bronchi fini o gli alveoli, dove l'epitelio è evanescente o manca addirittura. Giunti, per tal modo, al confine de' minimi bronchi, i microbi predetti verrebbero dall'azione ciliare risospinti verso le vie superiori e da ultimo convogliati dalla espettorazione, ne' mucoi normali o patologici (1).

Ma se questo avviene in condizioni normali, non si può dire lo stesso di taluni stati patologici, ad esempio della polmonite, della pleurite, della tisi. Gli elementi o i germi parasitarii, in questi casi, non solo raggiungono i minimi bronchi, ma di là si diffondono anche in sedi più lontane; il che può dipendere da eventuale insufficienza dell'azione ciliare, o da un concorso straordinario di elementi parasitarii che la superi, o dalla escursione dei microbi lungo qualche tratto denudato della mucosa.

Della vegetazione di filamenti o ciuffi di *leptothrix* sulla congiuntiva o nelle vie lagrimali scrissero, primi, il Förster e il Graefe; il Bizzozero ne ritrae un esemplare nella tav. V, fig. 52^a del citato manuale, figura riprodotta nella fig. 4^a d della nostra tavola; ed è naturale supporre che i relativi germi prendano origine dal naso (2).

Se ora, dai microbi della bocca e del naso, passiamo a considerare quelli delle vie genitoorinarie esterne, troveremo le stesse disseminazioni, ma con questa differenza, che le incontriamo più di rado e in minore abbondanza; il che dipende da due ragioni. Prima ragione è la scarsezza relativa della vegetazione parasitaria,

(1) *Journal of microscopy and natural science*, etc. loc. cit. pag. 34.

(2) Förster, *Arch. für Ophtalm.* t. XV, pag. 310. Graefe, *Ueber Leptothrix in den Thränenrührchen* (*Arch. cit.* t. XVI, pag. 324).

specialmente sulla mucosa balanoprepuziale (paragonata a quella della bocca e del naso cumulativamente); seconda ragione è la mancanza d'una spinta abbastanza forte e ripetuta di propulsione, che valga, almeno in condizioni normali, a sospingere gli elementi o i germi del parassita nell'uretra o nella vescica. Tuttavia una penetrazione su piccola scala si deve ammettere, se guardiamo gli epiteli delle vie urinarie inferiori. Tali epiteli, anche nelle orine le più sane ed appena emesse, si trovano invasi od anche infarciti di batterii, in grado tale da non potersi punto attribuire ad inquinamento posteriore (consecutivo cioè alla emissione dell'urina); ma che accusa manifestamente la loro invasione *in situ*, o nella vescica o nell'uretra. Naturalmente la invasione non ha potuto avvenire che per lento moto di progressione de' relativi elementi o germi, sia lunghesso il muco di rivestimento, sia da una squametta epiteliale all'altra contigua, e così di seguito.

In certe orine, intorno ai fiocchetti o serpicine di muco dell'uretra maschile, s'incontrano talora delle zolle sì vaste di *leptothrix*, da occupare l'intero campo visivo di un'oggettiva n. 7 od 8 di Hartnack. Tali zolle sono così strettamente simili alle giovani zolle della patina dentaria, che l'osservatore più rotto a questo genere di ricerche, non saprebbe distinguere le une dalle altre.

Ultimamente ci si offerse un caso di questo genere nell'urina di un individuo affetto da pielite cronica e stato già vittima di varie blenorragie. Due di questi fiocchetti li ponemmo in un tubolo chiuso, con un pochino dell'urina rispettiva, e per sei giorni li tenemmo a contatto della parete interna, irrorandoli pian piano, una o due volte al giorno, mediante l'inclinazione del tubolo. Al sesto giorno, il materiale di questi fiocchetti, preparato e colorato col violetto di genziana, allo stesso modo della patina dentaria, presentò esattamente tutte le forme del *leptothrix buccalis*, meno le produzioni a *punte* (forse disfatte nella preparazione). Certo vi erano innumerevoli bacilli virgolati o fusati, piuttosto piccoli, in movimento attivissimo; c'era anche un numero discreto di piccole *spighe*. A farla breve, tutte le forme di batterii e bacilli, di catene, di filamenti e di fasci, descritte nel *leptothrix buccalis* (tranne il *jodococcus vaginatus*), vi si rinvennero egualmente. Né vi mancavano gli spirilli o spirocheti, la più parte ancora in movimento, non ostante la colorazione.

Tra queste forme di *leptothrix* e quelle della bocca, non si poté scorgere altra differenza, se non la minor lunghezza e spessezza de' filamenti, de' fasci e delle catene, e l'esilità estrema, com-

binata a maggior lunghezza degli spirilli. In tutto il resto identità completa (1).

Sarebbe utile insistere in questo genere di ricerca, e per conto nostro ci proponiamo di tornarvi alla prima occasione, per meglio stabilire l'identità del *leptothrix buccalis* col *praeputialis*, e quindi l'identità de' batterii e bacilli delle vie aeree con quelli delle vie genitoorinarie.

Un argomento di analogia per l'arrivo degli elementi o germi di *leptothrix* nell' uretra, l' abbiamo nella penetrazione di germi ben più voluminosi, quali sono quelli de' funghi superiori, probabilmente del genere *penicillium*, sia nell'uretra istessa, sia nella vescica; e già ne abbiamo ricordato un esempio nel nostro articolo, su' funghi dell'uretra maschile, sopra citato.

Naturalmente il trasporto, minimo nello stato sano, aumenta nello stato morbosso, ed eccovi la ragione de' così detti *gonococchi* nella blenorragia; ma già superiormente abbiamo fatto notare che, nel pus blenorragico, la forma più comune di batterii non è quella di *gonococchi* o diplococchi arcuati del tipo *g. l, p* (fig. 1°), ma quella de' comuni diplococchi a capocchie tonde, talora cinti di alone, sia dentro, sia fuori degli epiteli o de' corpuscoli di pus. Di tale argomento ci siamo anche intrattenuti nell'altra comunicazione già citata, sopra un caso di carcinoma della vescica, nel quale l' orina ci mostrò un grandissimo numero di diplococchi arcuati o *gonococchi*, indipendentemente da qualsiasi contagio blenorroico.

Nella memoria sulla pertosse e nel primo paragrafo di questo lavoro, abbiamo riferito anche intorno alla presenza di tali diplococchi arcuati o *gonococchi* negli espettorati o nella saliva, non che del singolare reperto di veri diplococchi ad aloni, morfologicamente identici ai così detti *pneumococchi*, nello sperma di recente espulso per malattia.

La sorpresa o la incredulità, che a prima giunta avranno potuto incontrare queste nostre osservazioni, cesserà, stimiamo, quando si consideri, che il fomite di tutte queste svariate disseminazioni è sempre lo stesso, che, cioè, tanto il *gonococco* quanto lo *pneumococco* o il bacillo del Koch, derivano, con grandissima proba-

(1) Tali nostre osservazioni, intorno alla molteplicità de' microbi dello scolo gonorroico e alla presenza degli spirilli nel segreto uretrale, si trovano confermate in uno studio del Legrain *sui microbi della blenorrea*. Questo a. trovò nello scolo gonorroico 12 diverse forme di cocci, 3 forme distinte di bacilli e una forma spirillica: totale, 16 forme di microbi (*Archiv f. Dermatologie u. Syphilis*, 1890).

bilità, da seminuli dello stesso genere; dal parassita che vive normalmente all'ingresso delle vie digestive ed aeree, all'egresso delle vie lacrimali ed all'egresso altresì delle vie genitoorinarie. Qual meraviglia dunque che lo *pneumococco*, rimorchiato, per mo' di dire, lungo l'uretra, si trovi nello sperma, e, a sua volta, il *gonococco* si trovi negli espettorati o nella saliva, e il bacillo del Koch faccia capolino alle volte, anche negli epiteliî boccali dell'uomo sano?

Del rimanente ognuno è in grado di verificare l'esattezza delle nostre osservazioni su questi diversi punti (1).

Ora da' fatti suesposti si deve inferire che probabilmente gli stessi batterii o bacilli reputati patogeni (nelle affezioni delle vie aeree e genitoorinarie) non sieno in realtà che altrettati disseminazioni de' germi od elementi de' microbi boccali o balano prepuziali, da cui morfologicamente i loro svariati tipi non differiscono punto; o almeno che, prima di ammettere l'esistenza di questo o quel batterio patogeno nelle vie predette, sia necessario dimostrare con prove chiare e conclusive, che tai bacilli, annunciati come patogeni, non sieno invece derivazioni del semenzaio normale. E tale obiezione non vale soltanto nella ipotesi da noi posta, della unicità o dualità al più, delle specie parasitarie della bocca; ma anche nella ipotesi, ora prevalente, della loro pluralità. Che anzi, più saranno, poniamo, le specie alberganti nelle fosse nasali o nel cavo boccale, e più difficile sarà l'escludere il loro intervento nella generazione de' batterii reputati patogeni.

Tutto, invero, induce a credere che questo semenzaio inesauribile di microbi normali, collocato dalla natura all'ingresso delle vie digestive ed aeree, abbia missione difensiva, contro l'intrusione di microorganismi del di fuori; costituisca, in altri termini, una vera *vegetazione escludente*, una barriera, dalla quale resti possibilmente impedito a germi estranei il penetrare o l'atteggiare negli organi retrostanti.

(1) Una conferma di queste nostre vedute l'abbiamo incontrata ultimamente in una osservazione del Bordoni Uffreduzzi e del Gradenigo, i quali trovarono " nel pus dell'orecchio sinistro (in un caso d'otorrea) numerosi diplococchi, a forma di biscotto, alcuni isolati, altri riuniti a tetradi, in parte liberi e in parte contenuti entro le cellule, simili in complesso ai gonococchi „. I citati aa. ritengono che i diversi microbi dell'otorrea (tra' quali predomina il diplococco lanceolato) abbiano anche origine dalla saliva (Sull'etiologia dell'otite media. Archivio per le scienze mediche, vol. XIV, 1890, pag. 276 e 278).

La natura ha voluto dotare il *leptothrix buccalis* di sì tenace resistenza agli agenti esterni, che gli elementi di questo fungo sui denti umani non si trovano distrutti neppure per volger di secoli. Prova ne sia il tartaro dentario delle mummie egiziane, nel quale i suoi filamenti furono ritrovati illesi dal Zopf e dal Miller, sciogliendo i sali calcarei con gli acidi (1).

E qui vorremmo ancora estenderci in ulteriori considerazioni su taluni punti delle odierne dottrine batteriologiche; ma per non dilungarci soverchiamente dal campo clinico, nel quale si aggirano le nostre ricerche, senza più veniamo alla conclusione.

RIEPILOGO

Raccogliendo in breve le cose esposte, prima nella parte batteriologica della memoria precedente, e poi nel presente lavoro, ne possiamo concludere quanto appresso.

I. Fra tutte le forme o tipi di batterii o di bacilli reperibili negli espettorati, vuoi fisiologici vuoi patologici, vi sono degli stadii misti o di transizione, pe' quali si rende manifesta la loro polimorfia, e il passaggio graduato dall'uno all'altro tipo.

II. De' tipi in discorso, non ve n'è alcuno che non si riscontri anche nel contenuto boccale o nel muco nasale e nella patina balanoprepuziale. Gli uni non differiscono morfologicamente dagli altri; quindi è generalmente ritenuto che i batterii e bacilli reperibili negli espettorati, allo stato sano, non sieno che semplici disseminazioni secondarie de'microbi boccali o nasali.

III. Ma, quando si tratta di alcuni batterii a dritto o a torto reputati patogeni (esempio lo *pneumococco* o il bacillo del Koch), la faccenda cambia aspetto: non si vuol più menar buona la loro origine boccale, accampando invece l'ipotesi di una loro origine specifica dal di fuori. Eppure questi tipi non si possono, neppur essi, distinguere morfologicamente dai tipi corrispondenti del contenuto boccale o del muco nasale. Converrebbe, per lo meno, dimostrare in modo positivo che quelli non derivino punto da questi, ad onta che questi medesimi, in ogni inspirazione, vengano (al pari degli altri microbi boccali) balestrati a sciami nel lume interno delle vie aeree. Ma tale dimostrazione è precisamente quella che non fu data; anzi l'unico criterio desunto (pel bacillo del Koch) dalla resistenza ai mezzi decoloranti, fu da noi dimostrato fallace.

(1) Zopf, *Die Spaltpilze*, Breslau, 1883, pag. 80. — Miller, *Prehistoric eth* (*Independ. Practitioner*, 1884).

IV. Non restano quindi, a sostegno della specificità di detti batterii, che i risultati più o meno controversi de' metodi di coltura e d'inoculazione. De' metodi di coltura diremo fra poco, e dei metodi d'inoculazione abbiamo toccato di volo; ma lasciando per ora impregiudicata la quistione de' metodi in parola, ci basti qui porre in sodo che l'ipotesi della specificità de' batterii reperibili negli sputi patologici, non viene punto sorretta dallo insieme de' fatti clinici, nè tampoco dalla quotidiana osservazione microscopica degli espettorati.

V. La congerie de' microbi boccali e nasali insieme può ragguagliarsi a *due* in *trecento trilion*i di germi ed elementi in continua proliferazione. Tale vegetazione, tanto per la sua diffusione (almeno in molte specie di mammiferi domestici), quanto per la sua costanza ed abbondanza, riveste il carattere di una vera *vegetazione escludente*, posta dalla natura all'ingresso delle vie digestive ed aeree, per servire (nelle prime) alla digestione, e (nelle seconde) a difesa contro i microorganismi del mondo esterno. Una vegetazione identica guarnisce l'egresso delle vie genitoorinarie; onde non è a stupire se de' batterii reputati specifici delle vie aeree si riscontrino anche ne' prodotti delle vie genitoorinarie, e viceversa: se, ad esempio, dei diplococchi incapsulati (*pneumococchi*) si trovino nel muco uretrale o nello sperma, e de' diplococchi arcuati (*gonococchi* del Neisser, reputati specifici del virus blenorragico) si trovino a loro volta negli espettorati o nell'orecchio medio.

VI. Checchè ne sia della importanza fisiologica del *leptothrix buccalis*, risulta dalle nostre osservazioni che il suo grado di organizzazione è molto superiore a quanto finora si è creduto. Il *leptothrix* non vive soltanto allo stato di batterio, di bacillo o di filamento; ma possiede veri organi di riproduzione, pe' quali s'assomiglierebbe ai funghi ed alle alghe *dioiche*, a sessi distinti sopra individui o filamenti diversi. I suoi filamenti fertili sono talora abbarbicati, con due o tre radici, su zolle o terreni stabili, e mettono capo ad una fruttificazione. Le *spighe* costituenti queste fruttificazioni, lunghe (nello sputo pulmonitico) fino a 1½ di millimetro, risultano di minute sporelline (tanto minute che *400 miliardi* di esse farebbero appena *un centigrammo*); e le sporelline, vivamente colorabili con le aniline, sono disposte in sei ordini longitudinali, fino al numero di 720 per ogni *spiga*; sono connesse fra loro e attaccate al fusto, mercè una sostanza amorfa,

debolmente colorabile (1). Però altri filamenti, meno numerosi di questi, talora multipli e da ultimo ramificati, portano certe produzioni a *punte* o pseudo inflorescenze, composte di bacilli fusati, serpentini o virgolati (*spirillum sputigenum*), destinati, a quanto sembra, co' loro vivaci movimenti, al ministero della copulazione. Vi ha per ultimo una gemmulazione di riserva, destinata (insieme con la moltiplicazione delle sporelline propriamente dette) a diffondere la specie ne' sostrati instabili, ossia ne' prodotti e nelle segrezioni liquide.

La fruttificazione a *spighe* si può riprodurre, sotto certe condizioni, anche negli espettorati e in certi fiocchetti del muco uretrale.

VII. Delle sei specie primarie di funghi, descritte ultimamente dal Miller nella bocca, non ve ne sarebbe in realtà che una, il *leptothrix buccalis* del Robin (*leptothrix innominata* del Miller), o al più una seconda, lo spirillo (*spirochaete dentium* del Miller). Gli altri quattro tipi rappresenterebbero, se non andiamo errati, soltanto delle fasi o delle particelle scisse del microfita; cioè, il *bacillus buccalis maximus* e la *leptothrix buccalis maxima*, frammenti delle ceppaie che formano lo strato inferiore di vegetazione; il *jodococcus vaginatus*, serie d'inguainamenti speciali di batterii, derivanti da talune delle gemmule di riserva incluse nei filamenti; lo *spirillum sputigenum* (bacilli virgolati, insieme coi nostri bacilli fusati e serpentini), appendici staccate dalle pseudo inflorescenze e probabilmente organi copulatori.

Tutte queste particelle o articoli, scissi dalla pianta madre (tranne gli ultimi, cioè i filamenti copulatori), si moltiplicano anche per conto proprio, in diversa guisa, a norma delle condizioni del sostrato nutritizio, ne' mestruai liquidi o su d'un suolo stabile.

VIII. Lo studio di tai forme vegetali, tanto nel contenuto boccale quanto negli espettorati (segnatamente della fruttificazione a *spighe*), richiede speciali norme e cautele e de' mezzi ottici adeguati; senza i quali presidii, la constatazione de' fatti sfuggirebbe, come per tanto tempo è sfuggita, alla ricerca, anche di osservatori valentissimi. Le produzioni a *punte* si scorgono abbastanza bene, anche con le oggettive a secco; ma non sono reperibili senza speciali riguardi nella raccolta e preparazione della patina dentaria.

Non sappiamo se l'unità specifica delle predette morfe (a *spi-*

(1) Per la connessione delle sporelline al fusto centrale, mediante peduncoli o fili d'impianto, visibili con una nuova oggettiva (1/25 i. o.), v. la nota a pag. 55.

ghe e a *punte*) sarà dai giudici competenti accolta, e se così saranno tutti i microbi boccali rannodati ad una sola pianta. Ma, fossero anche due o più le specie vegetali in quistione, la conseguente disseminazione de' loro germi ed elementi nelle vie aeree non ne rimarrebbe punto infirmata.

IX. Le forme più minute di cocchi, disseminati o allineati, reperibili nel contenuto boccale, negli epiteli omonimi, o negli espettorati, per noi non sono altro che delle sporelline cadute dalle fruttificazioni a *spighe*, e prima disseminate per la bocca, poi balstrate nelle vie respiratorie. I bacilli del Koch (parliamo de' bacilli a coroncine) potrebbero non esser altro che queste medesime sporelline disposte in serie, e così proliferanti ne' prodotti tubercolari o altrove. Certo le sporelline, ancora attaccate alle fruttificazioni, o cadute lì presso, fissano energicamente i colori d'anilina; ma resta a vedere se, negli sputi de' tisici, la loro resistenza ai mezzi decoloranti sia originaria o soltanto acquisita nel nuovo substrato alimentizio loro offerto dalle lesioni tubercolari. Tale resistenza, ad ogni modo, è sempre relativa, d'incerto valore diagnostico, e alle volte inferiore a quella di altri batterii, come già dimostrammo nella memoria precedente.

Le forme di bacilli del Koch che invece sono costituiti in bastoncini contenenti granuli o vacuoli, con la doppia colorazione (al violetto di genziana e alla soluzione iodica), si comportano presso a poco come gli articoli analoghi del *leptothrix*. Ma su questi ed altri punti non meno importanti, circa lo studio clinico degli espettorati tubercolari, avremo a intrattenerci di proposito in altra occasione.

X. Tuttavia, se le nostre osservazioni sulla morfologia e biologia del *leptothrix* sono esatte, se tutte o quasi tutte le forme di batterii e bacilli reperibili negli espettorati, non sono altro che *particelle od organi diversi di un' unica pianta*, ognun vede quanto i metodi attuali di coltura (almeno de' batterii delle vie aeree) ne rimangano infirmati. E per fermo, altro è identificare o qualificare un fungo in base alla sua fruttificazione, altro è volerlo fare in base alla forma delle colture, immerse o terragne, di singole sue particelle, o alle modificazioni indotte da queste ne' varii substrati nutritizii. Un batterio o un bacillo fluidificherà la gelatina o segregherà dati principii (e mettiamo pure de' veleni), in modo onninamente diverso da un altro batterio o bacillo; senza che perciò le due forme si debbano ritenere come due organismi o specie diverse, dal momento che tai forme ci risultano semplicemente come organi o particelle d'una pianta unica, destinate a compiere dispa-

rati ufficii , e che possono quindi esser dotate di proprietà le più diverse.

XI. Stando così le cose, la denominazione di *batterio* o *bacillo* non si può più ritenere come un sinonimo di *microorganismo*. Parlare di batterii o bacilli sta bene, massime se si tratta di particelle o articoli separati dalla pianta madre; e in tal caso si potrà anche ammettere la denominazione generica di *microbi*. Ma dire *microorganismo* è designare l'intero microfita, di cui i batterii e bacilli non sarebbero che singole particelle sparpagliate, le quali per loro stesse non costituiscono degli organismi compiuti, quantunque sieno, la più parte, dotate della facoltà di moltiplicarsi anche per conto proprio. Tale denominazione non si attaglia punto alle singole particelle, nè, per conseguenza, ai singoli batterii o bacilli (1).

Non vogliamo chiudere questo scritto, senza una breve dichiarazione.

Forse alcune delle nostre vedute sul conto de' batterii parranno soverchiamente ardite, ma noi non abbiamo inteso far altro che sottoporle, senza pretesa alcuna, al giudizio de' naturalisti. Notiamo soltanto che la nostra opposizione a taluni punti delle odierne dottrine batteriologiche, è più apparente che reale. A noi pare che, continuando il presente indirizzo al particolarismo, nella classificazione de' batterii, si debbano di giorno in giorno venire sempre più moltiplicando le loro specie, a tal punto, da costituire inciam-

(1) Perchè non ci si accusi di soverchio ardimento, addurremo, a conferma di questa nostra veduta, l'opinione del Klein, il quale, nel maggio ultimo, presentava alla Società reale di Londra le fotografie di una cultura del bacillo tubercolare, *che appariva distintamente ramificato*, come un *fungo a miceli*. Egli ne inferiva che, *almeno alcuni degli schizofiti*, non sieno in realtà se non *forme di sviluppo o fasi transitorie di organismi superiori*. L'opinione del Dowdeswell è ancora più esplicita. „ È chiaro (scrive quest'ultimo, a proposito de' bacilli virgola) che, o questi microbi non sono degli schizofiti normali, o se sono tali, non rappresentano un gruppo indipendente (com'è stato notato dagli ultimi scrittori di batteriologia), ma sono *semplici fasi evolutive* di alcuni organismi superiori, o forse non sono che *semplici organi di altri organismi* (Lancet, 1890, vol. I, loc. cit. pag. 1422). Ultimamente anche Sheridan Delepine, studiando lo sviluppo dei batterii nelle sue *culture a membrane interlamellari* (tra il copri e il porta oggetti), è venuto alla medesima conclusione, di un *processo*, cioè, di *ramificazione in molti bacilli*, mercè determinati filamenti. *A new method (interlamellar films) of studying the development of micro-organisms*, etc. nell' *International journal of microscopy* a. n. s. november 1891, pag. 343.

po, forse non lieve, all'avvenire di questi studii. Invece se le nostre osservazioni sono esatte, se le forme di batterii delle vie aeree e genitoorinarie si riducono ad una sola specie, e se coerentemente anche gli altri svariati tipi di batterii (o non patogeni affatto o patogeni d'altre sedi) potranno man mano ridursi a determinate specie di microorganismi, *secondo le fasi naturali del loro pieno sviluppo*; questo lavoro di coordinamento e di semplificazione potrà ridondare anzi a profitto delle stesse indagini di patologia sperimentale. Si potrà, in altri termini, riconoscere che altra cosa sia l'entità botanica, altra l'entità patogenica de' batterii; che due o più batterii, onninamente diversi per la loro azione patogenica, possano derivare da un solo microorganismo, e che un batterio non patogeno possa appartenere, a sua volta, allo stesso microorganismo da cui deriva un batterio patogeno.

Chieti, nel giugno del 1890.

F. VICENTINI
Socio corrispondente

BIBLIOGRAFIA

1. Arndt, *Beobachtungen an Spirochacte denticola* (Arch. für path. Anat. und Phys. und d. klinische Med. t. LXXIV, 1880).
2. Baume, *Odontologische Forschungen*, II. Dello stesso v. anche le istituzioni di Odontoiatria (*Lehrbuch der Zahnheilkunde*, 3. Auflage, Leipzig, 1890).
3. Beale, *The microscope in medicine*, London, 1878, pag. 490.
4. Béchamp, *La salive la sialozymase et les organismes buccaux chez l'homme* (*Archives de physiologie*, 3^e série, t. I, 1883, pag. 47).
5. Bizzozzero, *Manuale di microscopia clinica*, Milano, 1882, pag. 103-4 e pag. 153.
6. Chevalier, *L'étudiant micrographe, Traité théorique et pratique du microscope*, etc. Paris, 1882, pag. 393-94.
7. Cornil et Babes, *Les bactéries et leur rôle dans l'anat. et l'hyst. patholog.* Paris, 1885, pag. 28 e pag. 135.
8. Decker und Seifert, *Ueber Mycosis leptothrica pharyngis* (*München medic. Wochenschrift*, XXXV, 4, pag. 67, 1888, e *Sitz. Ber. der physik. med. Ges. zu Würzburg*, 2, pag. 26).
9. Dowdeswell, *Note on the morphology of the cholera comma bacillus* (*Lancet*, 1890, vol. I, pag. 1419-23).
10. Ewart and Geddes, *Life history of spirillum* (*Proceedings of the R. society*, XXVij, 1878, pag. 484).
11. Flügge, *I microorganismi ed etiologia delle malattie infettive*, versione it. Napoli, 1889.
12. Förster, *Arch. für Ophtalm.* t. XV, pag. 318.
13. Frey, *Manuale di tecnica microscopica*, versione ital. Napoli, 1873, pag. 278.
14. Graefe, *Ueber Leptothrix in der Tränenröhrchen* (*Arch. für Ophtalm.* t. XVI).
15. Hallier, *Die pflanzlichen Parasiten*, etc. Leipzig, 1866.
16. Jaksch, *Manuel de diagnostic des malad. intér. par les méthodes bactériologiques*, etc. trad. de l'allemand, Paris, 1888, pag. 50-57 e pag. 71.
17. Kützing, *Linnaea*, 1883.
18. Leber, *Quarterly journal of microscopical science*, 1874.
19. Leber und Rottenstein, *Untersuchungen über die Caries der Zähne*, Berlin, 1867.
20. Lewis, *A memorandum on the comma-shaped bacillus, alleged to be the cause of cholera* (*Lancet*, 1884, vol. II, pag. 513).
21. Miller, *Der Einfluss der Mikroorganismen auf die Caries der menschlichen Zähne* (*Archiv für exp. Pathologie*, XVI, 1882).

22. Lo stesso, *Ueber einen Zahnsplappilz, Leptothrix gigantea* (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, Berlin, 1883, Heft 5, pag. 221).
23. Lo stesso, *Zur Kenntniss der Bacterien der Mundhöhle*, 1884.
24. Lo stesso, *Biological studies on the fungi of the human mouth* (Indep. Practitioner, 1885, pag. 227-83).
25. Lo stesso, *Beiträge zur Kenntniss der Mundpilze* (Deutsche medicin. Wochenschrift, XIV, 30, 1888).
26. Lo stesso, *Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Die örtlichen und allgemeinen Erkrankungen*, etc. Leipzig, 1889.
27. Perroncito, *I parassiti dell'uomo e degli animali utili*, Milano, 1882, pag. 56.
28. Lo stesso, *Il carbonchio*, 1885.
29. Rappin, *Les bactéries de la bouche à l'état normal et dans la fièvre typhoïde*, Paris, 1881.
30. Rasmussen, *Ueber die Cultur von Mikroorganismen vom Speichel gesunder Menschen*, Kopenhagen, 1883.
31. Richter, *Die neuern Kenntnisse von den krankmachenden Schmarotzerpilzen, nebst phytophysiologischen Vorbegriffen* (Schmidt's Jahrbücher, 1867, 135, pag. 81 e seg. e 140, pag. 101 e seg.).
32. Robin, *Des végétaux qui croissent sur les animaux vivants*, Paris, 1847, pag. 42.
33. Lo stesso, *Histoire natur. des végétaux parasites qui croissent sur l'homme et sur les animaux vivants*, Paris, 1853.
34. Sternberg, *American journal of medic. science*, 1884-85.
35. Vignal, *Recherches sur les microorganismes de la bouche* (Arch. de physiol. norm. et patholog. 1886, n. 8).
36. Zopf, *Zur Morphologie der Spaltpflanzen*, Leipzig, 1882.
37. Lo stesso, *Die Spaltpilze*, Breslau, 1883, pag. 80 e seg.
38. Zurn, *Die Schmarotzer*, etc. parte II, Weimar, 1887-89 (1).

(1) Pei lavori del David e del Billet, vedete la nota in fine del paragrafo terzo.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

Figura 1.^a

a. (Pertosse) — Batterii minuti, al violetto di genziana $\times 800$. — *b.* Gli stessi, più ingranditi $\times 2500$.

b'. (Pulmonite) — Piccolo bacillo in formazione, al violetto metilico $\times 2500$.

c, c. (Pertosse) — Catenule di batterii, al violetto di genziana $\times 800$. —

d. Parte della catenula più lunga, più ingrandita $\times 2500$.

e. (*Ibidem*) — Batterii a manipoli. — *f.* Dentro un epitelio boccale (alcuni con apparenza di capsula), al violetto di genziana $\times 2500$.

c', c'. (Tisi) — Bacillo flessuoso, formato da una serie di batterii incapsulati, al violetto di genziana $\times 860$.

f'. (Pulmonite) — Due diplococchi riuniti in un alone unico, in moto, al violetto metilico $\times 2500$.

g. (Pertosse) — Diplococchi arcuati, e minuti batterii, al violetto di genziana $\times 2500$.

h. (*Ibidem*) — Piccolo corpuscolo di pus, arieggiante uno *pneumococco* incapsulato, al violetto di genziana $\times 2500$.

i. (*Ibidem*) — Batterii a coroncine, germinanti da un capo. — *k.* Da due capi, al violetto di genziana $\times 2500$.

l. (*Ibidem*) — Diplococchi in via di saldamento, un diplococco arcuato e batterii germinanti, al violetto di genziana $\times 2500$.

l (nel basso), *l', l'*. (Pulmonite, pleurite e pertosse) — Diplococchi dall'apparenza capsulare, al violetto metilico $\times 2500$.

m, m. (Pertosse) — Bacilli maturi, al violetto di genziana $\times 2500$.

n, n, n. (*Ibidem*) — Bacilli più giovani, al violetto di genziana $\times 2500$.

n'. (Pleurite) — Bacillo partecipante del tipo *m* e del tipo *n*, al violetto metilico $\times 2500$.

o. (Pertosse) — Diplococchi e batterii di tipo raro, al violetto di genziana $\times 2500$.

p p. (*Ibidem*) — Grossi batterii o diplococchi diritti ed arcuati, in catena, al violetto di genziana $\times 2500$.

p'. (*Ibidem*) — Gli stessi batterii diritti, con apparenza di capsula, al violetto metilico $\times 2500$.

q. (*Ibidem*) — Bacillo monoarticolato, al violetto di genziana $\times 2500$.

r. (*Ibidem*) — Grosso bacillo quadriarticolato, al violetto di genziana $\times 2500$.

s. (*Ibidem*) — Batterii minuti o bacilli a coroncine, morfologicamente identici ai bacilli tubercolari del Koch. — *t.* Granuli minutissimi di mielina interposti, al violetto di genziana (tanto i bacilli che i granuli) $\times 2500$.

u, u. (Sputo sano) — Intrecci di batterii su due e tre linee, al violetto di genziana $\times 600$.

v. (*Ibidem*) — Coroncina che poi dà origine a un bacillo del tipo n (a sinistra e in alto), al violetto di genziana $\times 600$.

v', v'. (*Ibidem*) — Bacilli dello stesso tipo q e z, al violetto di genziana $\times 600$.

x. (*Ibidem*) — Bacilli a coroncine, formati da articoli di tipo diverso, al violetto di genziana $\times 2500$.

x'. (Pulmonite) — Bacillo a coroncina, formato pure da articoli di tipo diverso, al violetto metilico $\times 1250$.

y. (Sputo sano) — Gruppo di batterii rotondi, al violetto di genziana $\times 2500$.

z. (*Ibidem*) — Catenula di batterii e batterii de' tipi q e v', che poi si trasformano in filamenti di *leptothrix*, al violetto di genziana $\times 2500$.

Figura 2.^a

ALTRE FORME DI BATTERII, AL VIOLETTO DI GENZIANA

a. Catenula del tipo pp (fig. 1^a) invaginata (*jodococcus raginatus* del Miller?), da uno sputo della pertosse $\times 690$.

b. Diplococchi, ad aloni e senza, e piccoli cocchi, misti in uno stesso coacervo. — b'. Diplococco minutissimo ad alone, dalla patina dentaria mista a saliva $\times 1750$.

c. Batterii a manipoli, appaiati, dal muco nasale condensato, allo stato sano $\times 2500$.

d. Diplococchi ad aloni (*pneumococchi*), colorati parzialmente. — e. Diplococchi senza aloni, anche parzialmente colorati, da uno sputo pulmonitico $\times 2500$.

f. *Pneumococchi* ad aloni spiccati, di forma acuminata. — f'. Altro pallido e senza alone, in accrescimento, da uno sputo pulmonitico $\times 1750$.

g. Grosso diplococco ad alone, da uno sputo pulmonitico $\times 2500$.

h. Diplococchi senza aloni, in accrescimento, che contengono de' granuli interni, da uno sputo pulmonitico $\times 2500$.

i. Grosso diplococco tondeggiante, ad alone, circondato da minutissimi cocchi. — i'. Catenula invaginata, composta di diplococchi analoghi, da uno sputo pulmonitico $\times 2500$.

Figura 3.^a

ALTRE FORME DI BACILLI; DA a AD h AL VIOLETTO DI GENZIANA, h' ALLA SOLUZIONE IODICA.

a. Bacillo di tre tipi, in parte a gemmule interne, in parte chiaro, in parte opaco, da un espettorato dell'*influenza* $\times 1250$.

b. Bacillo in parte opaco, in parte chiaro, dalla saliva $\times 1250$.

c. Bacillo di quattro tipi, dalla saliva $\times 1250$.

d. Bacillo parzialmente colorato, contenente un batterio a manipolo,

posto di traverso (*bacillus buccalis maximus* del Miller?), dalla patina dentaria $\times 2500$.

e. Bacillo fusato, internamente granuloso, da uno sputo bronchitico. — e'. Analoghi bacilli, ma cilindrici, da uno sputo pulmonitico $\times 1750$.

f. Due esilissimi bacilli, l'uno monoarticolato, l'altro granuloso, da uno sputo pulmonitico $\times 2500$.

g. Esilissimo bacillo a tre nodi, dal medesimo sputo $\times 2500$.

h. Bacillo virgolato (*spirillum sputigenum* del Miller), da uno sputo pulmonitico. — h'. Bacillo serpentino, a foggia di spermatozoide (colorato alla soluzione iodica), dalla patina dentaria $\times 2500$.

Figura 4.^a

CESPUGLI DI *leptothrix*, ALLO STATO NATURALE, DAL BIZZOZERO $\times 400$.

a. Fasci di filamenti di *leptothrix*. — b. Filamenti articolati. — c. Spirilli, dalla patina dentaria.

d. Cespuglio di *leptothrix*, da una concrezione del sacco lagrimale.

Figura 5.^a

Jodococcus vaginatus, DAL MILLER $\times 1100$.

Figura 6.^a

CESPUGLIO DI *leptothrix gigantea* DELLA PECORA, ALLO STATO NATURALE, DAL MILLER $\times 540$.

Sp. Filamenti spirillici. — V. Filamenti vibrionici.

Figura 7.^a

RADICI, RIGONFIAMENTI E STROZZATURE DI ALCUNI FILAMENTI FERTILI DI *leptothrix*, DALLA PATINA DENTARIA $\times 850$.

a. Frammento di filamento fertile, con due radici, allo stato naturale (*austorii*?).

b. Filamento fertile, con tre radici e un rigonfiamento apicale, allo stato naturale.

c. Diverse forme di rigonfiamenti apicali o capituli di giovani filamenti, al violetto di genziana.

d. Terminazione in catenula, di un grosso filamento quasi legnoso (*leptothrix buccalis maxima* del Miller), con una strozzatura, da cui si spicca in ultimo un filamento fertile più esile, al violetto di genziana.

Figura 8.^a

TRE FRUTTIFICAZIONI A *spighe*, ISOLATE,
AL VIOLETTO DI GENZIANA, DALLA PATINA DENTARIA $\times 1250$.

- a*, *a*. Gemmule di riserva, dentro lo stelo. — *b*. Sporelline intatte. — *b'*. Sporelline residuali, in un punto di disgregazione della *spiga*.
c. *Spiga* impiantata sopra uno stelo più vecchio, a nodi.
d. *Spiga* impiantata sopra uno stelo men vecchio, pure a nodi.

Figura 9.^a

CESPUGLIO DI *spighe*, VEDUTO A VOLO D'UCCELLO,
AL VIOLETTO METILICO DEBOLE, DALLA PATINA DENTARIA $\times 1250$.

Figura 10.^a

CESPUGLIO DI *spighe*, VEDUTO DI PROFILO,
ALLA FUCSINA DEBOLE, DALLA PATINA DENTARIA $\times 850$.

Figura 11.^a

DUE *spighe* SPORGENTI DA UN'ISOLETTA DI *materia alba*,
ALLA SOLUZIONE IODICA NON ACIDULATA $\times 1250$.

Figura 12.^a

PRODUZIONI A *punte* (PSEUDOINFLORESCENZE),
ALLO STATO NATURALE, DALLA PATINA DENTARIA.

- a*. Pseudoinflorescenza ramosa, portante bacilli fusati piccoli (organi copulatori ?) $\times 690$.
b. Pseudoinflorescenza isolata, portante analoghi bacilli $\times 690$.
c. Frammento di pseudoinflorescenza, portante bacilli fusati e bacilli virgolati insieme (organi copulatori ?) $\times 690$.
d. Bacillo fusato caduto, più ingrandito, in vivo movimento (*bacillus tremulus* del Rappin) $\times 1250$.

Figura 13.^a

ARTICOLI E BACILLI VIRGOLATI, SPARSI DI VAGUOLI, IN APPARENTE COPULAZIONE,
ALLA SOLUZIONE IODICA NON ACIDULATA, DALLA PATINA DENTARIA $\times 2500$.

Figura 14.^a

ESEMPLARE DI FRUTTIFICAZIONE A *spighe*, OCCUPANTE DUE CAMPI VISIVI (COLORAZIONE DI DUE ORE AL VIOLETTO DI GENZIANA), DA UN ESILISSIMO STRATO DI SPUTO PULMONITICO, AL SETTIMO GIORNO DALLA EMISSIONE $\times 850$ e $\times 2500$.

A. Cespuglio principale. — *B*. Parte di esso, trascinata verso il basso dalla pressione del coprioggetti $\times 850$.

a. Gambo denudato, contenente gemmule di riserva $\times 850$. — a'. Parte di esso più ingrandita, dopo lunga imbibizione nella glicerina, con una traccia di nodo $\times 2500$.

b. Lunga *spiga*, in gran parte disgregata $\times 850$.

c. *Spiga* rotta, a sezione netta $\times 850$.

d, e. Cumoli di sporelline cadute dalle *spighe* attigue $\times 850$.

f, g. Punte di due *spighe* rovesciate in basso dalla pressione del coprioggetti $\times 850$.

N. B. Altri frammenti di *spighe* si vedevano sparpagliati ne' campi visivi, all'intorno dell'esemplare qui delineato.





