



*Ann. Os. 29. 20*

Laboratori scientifici della Direzione di Sanità Pubblica.

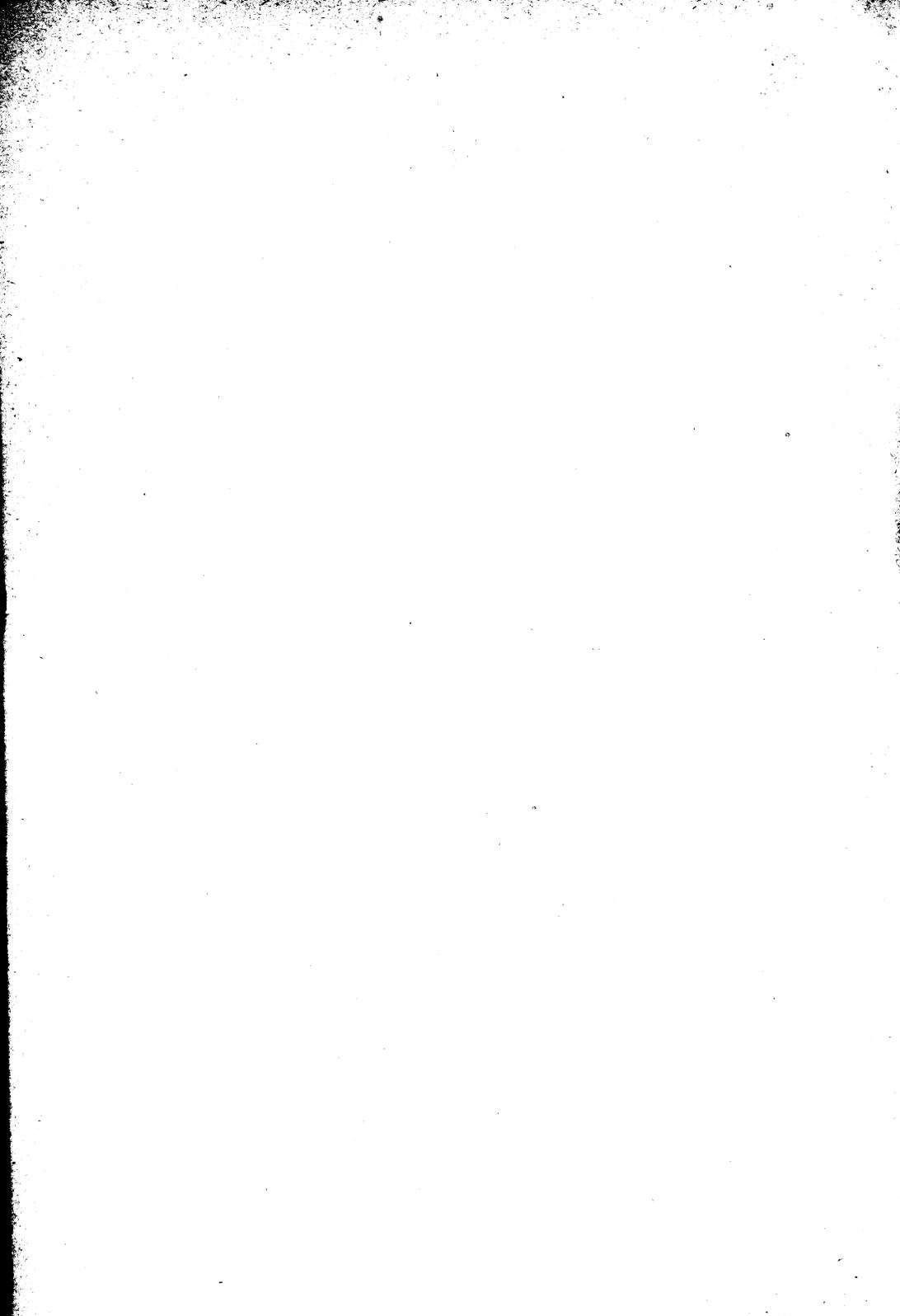
STUDI  
SULLA  
INFEZIONE MALARICA

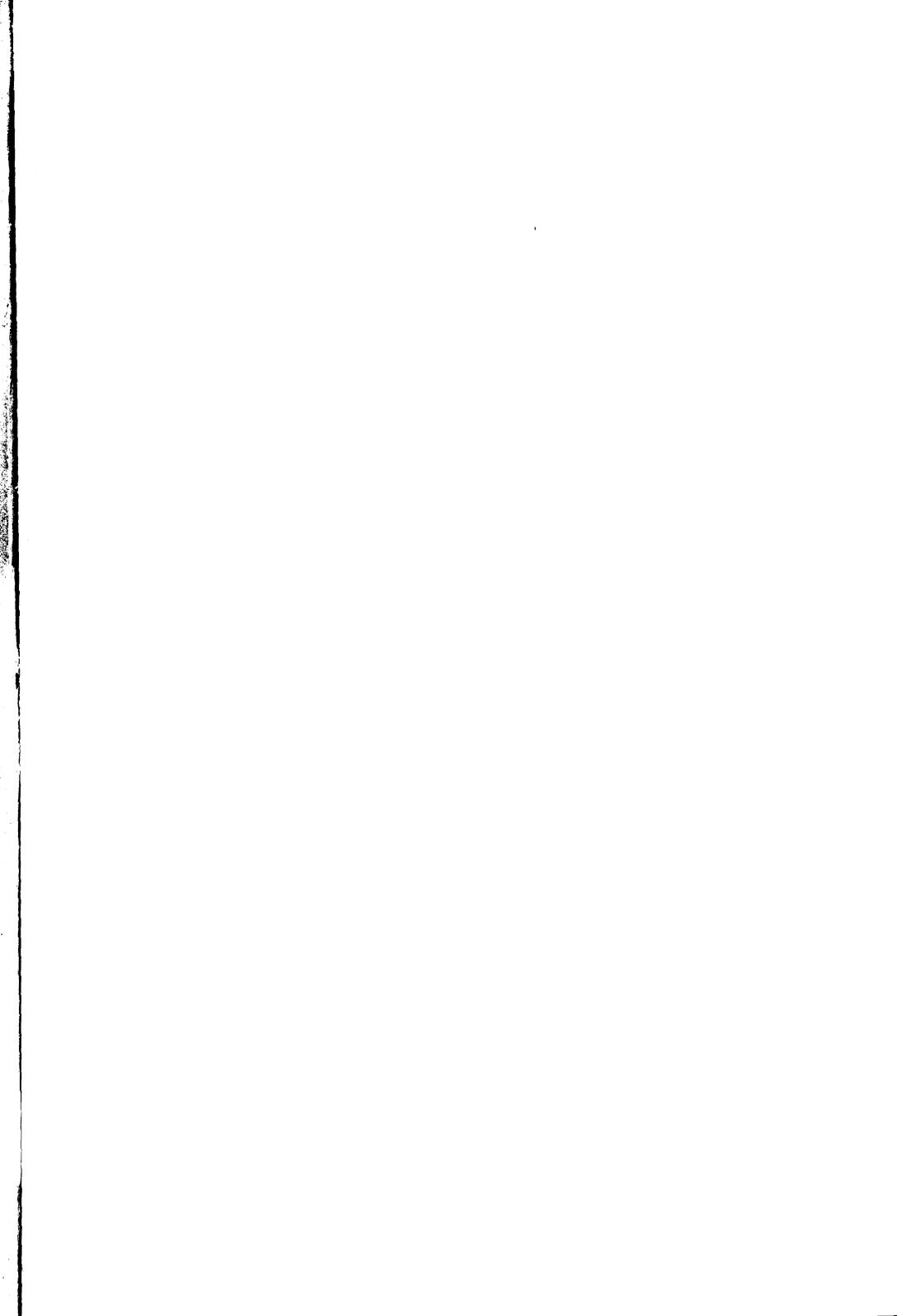
Sulla varietà parassitaria delle forme semilunari di Laveran  
e sulle febbri malariche che da esse dipendono.

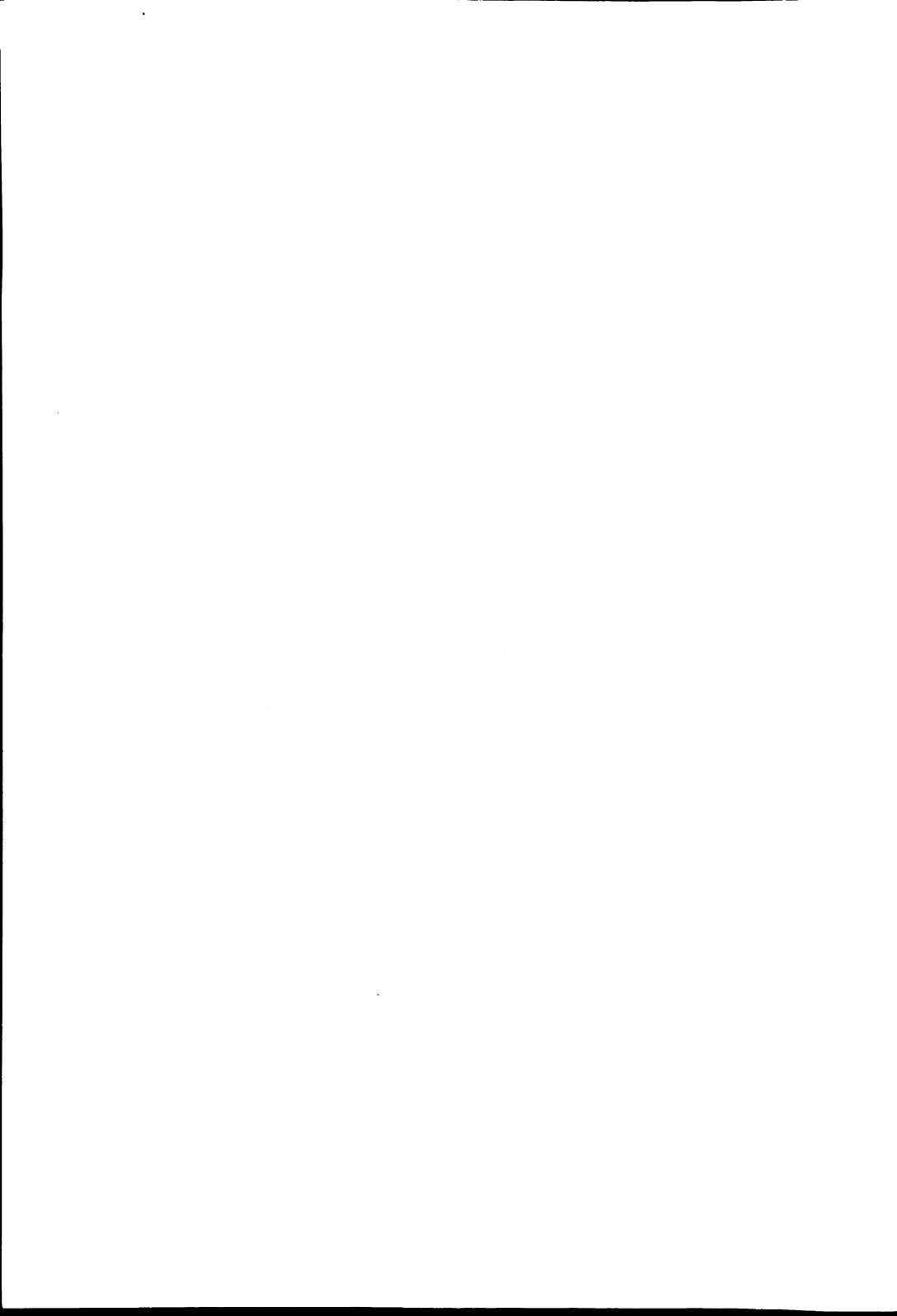
OSSERVAZIONI  
DEL  
Dott. PIETRO CANALIS



TORINO  
VINCENZO BONA  
Tip. di S. M. e dei RR. Principi.  
1889







Laboratori scientifici della Direzione di Sanità Pubblica.

STUDI

SULLA

INFEZIONE MALARICA

Sulla varietà parassitaria delle forme semilunari di Laveran  
e sulle febbri malariche che da esse dipendono.

OSSERVAZIONI

DEL

Dott. PIETRO CANALIS



TORINO

VINCENZO BONA

Tip. di S. M. e dei RR. Principi.

1889



Laboratori scientifici della Direzione di Sanità Pubblica.

STUDI  
SULLA  
INFEZIONE MALARICA

Sulla varietà parassitaria delle forme semilunari di Laveran  
e sulle febbri malariche che da esse dipendono <sup>(1)</sup>.

OSSERVAZIONI

DEL

Dot. **Pietro CANALIS**

Docente di Igiene

(Con una tavola)

I parassiti della malaria portano giustamente il nome dello scienziato che per il primo li studiò accuratamente e ne riconobbe la natura parassitaria, di A. Laveran, medico militare francese. Le diverse forme che essi presentano furono da lui raggruppate in tre categorie delle quali riassumerò la descrizione che egli ne fece nel suo trattato (2):

**Corpi n. 1 o a semiluna.** — Sono elementi cilindrici lunghi da 8 a 9  $\mu$  e larghi 3  $\mu$ , pigmentati nella parte mediana e per lo più incurvati a semiluna, colle estremità appuntate o arrotondate, legate soventi dal lato della concavità da una linea finissima.

(1) I più importanti risultati di queste ricerche furono pubblicati in forma di nota preventiva il 10 ottobre 1889 nelle *Pubblicazioni della Direzione di Sanità Pubblica* e poi nello stesso mese nella *Riforma Medica e Gazzetta degli Ospitali*.

(2) A. Laveran, « Traité des fièvres palustres avec la description des microbes du paludisme ». Paris, 1884.

Sopra certe preparazioni è facile constatare che esiste in essi un doppio contorno. Accanto a questi elementi si trovano quasi sempre dei corpi ovalari col pigmento disposto soventi a corona regolare.

Corpi n. 2 o corpi sferici. — Questi sono i più frequenti, ora liberi nel siero sanguigno ora attaccati alle emazie, di dimensioni molto varie da 1-11  $\mu$ , contengono per lo più granuli di pigmento nero o rosso-scuro, ma i più piccoli, *allo stato nascente per così dire*, non ne contengono ancora. Nei corpi più grossi i granuli di pigmento si dispongono soventi regolarmente a forma di corona, ovvero sono disposti senza ordine e animati da vivissimo movimento analogo al movimento browniano. La loro forma sferica si può modificare sotto l'influenza di movimenti paragonabili agli ameboidi. In questa seconda categoria Laveran descrive pure i corpi muniti di filamenti mobili o flagellati, i quali costituiscono anche oggi la forma più mirabile di questi parassiti e la dimostrazione più imponente della loro vita. I filamenti mobili sono finissimi e trasparentissimi, lunghi 3-4 volte il diametro di un'emazia, ora liberi nel siero ora attaccati per un'estremità, in numero vario da 1 a 6, ai corpi n. 2 di medio e grande volume. I loro movimenti sono energici al punto da deformare e spostare i globuli rossi vicini, e vennero paragonati da Laveran a quelli di un'anguillula che fosse serrata per la sua estremità caudale e facesse sforzi per liberarsi. Secondo Laveran (1) i filamenti mobili *sembrano rappresentare lo stato adulto dei microbi della malaria*, ed i corpi n. 2 sono *probabilmente* (2) *delle piccole cisti nell'interno delle quali si sviluppano i filamenti mobili*.

Corpi n. 3. — Sono masse ialine di dimensioni presso a poco uguali a quelle dei leucociti, contenenti granuli di pigmento variamente disposti, e rappresentano le forme cadaveriche dei corpi n. 1 e n. 2. In quest'ultima categoria Laveran comprende anche le forme di segmentazione, delle quali dice che sono elementi coi grani di pigmento accumulati al centro e che *intorno alla loro massa pigmentaria centrale si distingue una specie di segmentazione abbastanza regolare delle parti vicine* (3).

(1) *Traité*, ecc., pag. 169.

2) *Id.*, pag. 176.

3) *Id.*, pag. 177.

A Laveran sembra evidente che i diversi elementi parassitari che si riscontrano nel sangue dei malarici corrispondano alle differenti fasi dell'evoluzione di un medesimo parassita (1).

Laveran aveva incominciato le sue osservazioni in Algeria fin dal 1879 e fu precisamente il 6 novembre 1880 che scoprì nel sangue fresco dei malarici in mezzo ai corpi pigmentati di cui aveva già sospettato la natura parassitaria, i corpi flagellati *la cui natura animata non era contestabile*. L'importantissima scoperta veniva annunciata al mondo scientifico in due note presentate all'Accademia di Medicina di Parigi il 23 novembre ed il 28 dicembre dello stesso anno, e la descrizione dei nuovi parassiti fu ripetutamente pubblicata negli anni successivi (2). Nella memoria del 1881 (*Nature parasitaire, ecc.*) egli dimostra con reperti di autossie illustrati da disegni che i parassiti sebbene si trovino in tutti i tessuti che ricevono vasi sanguigni, pure hanno una specie di predilezione per certi organi che sono la milza, il fegato, il cervello e il midollo spinale, e chiude la pubblicazione colle conclusioni che riporto testualmente:

« 1° Nel sangue degli ammalati affetti da febbre palustre  
« esistono elementi parassitari pigmentati che si presentano  
« sotto tre aspetti principali. 2° Gli elementi parassitari del  
« sangue che sono descritti in questo lavoro sotto il nome di  
« corpi n. 1, n. 2, n. 3 non rappresentano probabilmente che  
« tre fasi di sviluppo di un solo e medesimo parassita com-  
« parabile alle oscillarie, vivente allo stato di agglomeramento  
« o di incistamento durante una parte della sua esistenza.  
« 3° Gli elementi parassitari pigmentati del sangue non si  
« riscontrano che nei malati affetti da febbre palustre; essi  
« scompaiono negli individui che prendono il solfato di chi-  
« nino. 4° Gli elementi parassitari trovati nel sangue degli

(1) *Traité, ecc.*, pag. 203.

(2) A. Laveran, *Communications à l'Académie de médecine sur les parasites du sang dans le paludisme* (Sedute del 23 novembre 1880, del 28 dicembre 1880, del 25 ottobre 1881 e del 23 ottobre 1882).

-- *Communications à la Société médicale des hôpitaux* (Sedute del 24 dicembre 1880, 28 aprile 1882 e 24 luglio 1885).

-- « *Nature parasitaire des accidents de l'impaludisme, description d'un nouveau parasite trouvé dans le sang des malades atteints de fièvre palustre* ». Paris, 1881.

-- « *De la nature parasitaire de l'impaludisme* ». *Revue scientifique* du 29 avril 1882, pag. 527.

« ammalati affetti da febbre palustre sono della stessa natura  
 « dei corpi pigmentati che esistono in sì gran numero nei  
 « vasi di tutti gli organi dei soggetti morti di febbre pernicio-  
 « siosa » che sono stati descritti finora come leucociti melano-  
 « niferi. 5° Gli elementi parassitari trovati nel sangue dei  
 « ammalati affetti da febbre palustre sono la causa diretta degli  
 « accidenti dell'*impaludismo*. 6° L'*impaludismo* deve prender  
 « posto ormai fra le malattie parassitarie ».

Da quanto ho esposto finora si vede che a Laveran non era sfuggita nessuna delle principali forme sotto le quali si possono presentare i parassiti della malaria, alcuni fatti però non erano stati da lui rettamente interpretati. Così, egli aveva capito benissimo che i parassiti si nutrono a spese dei globuli rossi a cui si attaccano (1) e che le forme pigmentate provengono dallo sviluppo delle forme non pigmentate (2), però credette che i parassiti n. 2 non liberi fossero soltanto attaccati non contenuti dentro le emazie. Così pure le forme di segmentazione le quali, come dimostrò più tardi il Golgi, rappresentano le forme di scissione e moltiplicazione dei parassiti, furono dal Laveran interpretate come forme cadaveriche.

Le osservazioni di Laveran furono confermate nel 1882 da un altro medico militare francese, il Richard (3), il quale inoltre interpretò bene i rapporti dei corpi n. 2 colle emazie dentro le quali ritenne che erano contenuti; nella sua ultima pubblicazione però anche egli accettò l'interpretazione di Laveran, che ora si ritiene dai più come non giusta.

Nel 1882 Laveran venne a Roma e nell'ospedale di S. Spirito trovò nel sangue dei malarici le stesse forme di parassiti che aveva studiato in Algeria (4), alcune forme anzi egli

(1) *Traité*, ecc., pag. 203.

(2) A pag. 203 del suo trattato si legge: « Au début ces éléments (parassiti) sont transparents, hyalins, non pigmentés et les hématies auxquelles ils s'accrochent, présentent simplement de petites taches claires (G, fig. 7), bientôt il se forme un grain de pigment à l'intérieur, puis deux, trois et bientôt les grains pigmentés deviennent assez nombreux pour qu'il soit souvent difficile de les compter ».

(3) Richard, Communications à l'Académie des sciences sur le parasite de l'impaludisme (Séance du 20 février 1882. — *Revue scientifique*, 1882, pag. 113).

(4) A. Laveran, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1887, pag. 273.

mostrò ai signori E. Marchiafava e A. Celli (1) i quali ancora non le conoscevano, ma forse perchè non ebbe l'occasione di mostrar loro dei corpi flagellati non riuscì a persuaderli che si trattava di parassiti. Questi osservatori diffatti proseguirono lo studio del sangue nei malarici e vi trovarono una gran parte dei parassiti descritti da Laveran, ma li ritennero come prodotti di una *degenerazione progressiva e graduale dei globuli rossi* (2), interpretazione che fu sostenuta a nome loro (3) nel Congresso di Copenaghen del 1884 dal prof Tommasi Crudeli, il quale cercò di confutare le ragioni addotte da Laveran e Richard in favore della natura parassitaria di quei corpi. « *I filamenti*, sosteneva il Tommasi-Crudeli a nome di Marchiafava e Celli, *sono semplicemente un prodotto della distruzione dei globuli del sangue. E in seguito: basta esaminare le forme iniziali dell'alterazione melanica dei globuli rossi nel disegno che voi avete sotto gli occhi per escludere l'interpretazione di Laveran e Richard. Si vede diffatti che il pigmento nero apparisce nell'interno dei globuli rossi senza la sostanza ialina, alla quale, secondo questi autori, esso docrebbe essere indissolubilmente legato, giacchè il pigmento non è per essi che un attributo del parassita rappresentato da questa sostanza* ».

Nel 1885 però anche Marchiafava e Celli si convertirono alla teoria di Laveran del quale confermarono in gran parte le osservazioni (4). Essi descrissero inoltre più minutamente che Laveran non avesse fatto le forme parassitarie non pigmentate alle quali diedero il nome di *plasmodi* e ne studiarono particolarmente i movimenti ameboidi. In quanto al rapporto di questi parassiti coi globuli rossi, essi abbracciarono l'idea sostenuta prima e poi abbandonata dal Richard che cioè non sono attaccati ma contenuti nei globuli.

Lo studio dell'eziologia della malaria non era dunque molto

(1) E. Marchiafava e A. Celli, *Archivio per le scienze mediche*, vol. XII, pag. 178.

(2) *Compte-rendu du Congrès périodique international des sciences médicales*. Copenhague, 1884, Tom. II, pag. 24 e 25.

(3) E. Marchiafava e A. Celli, *Archivio per le scienze mediche*, vol. XII, pag. 171.

(4) E. Marchiafava e A. Celli, « *Nuove ricerche sulla infezione malarica* ». *Archivio per le scienze mediche*, vol. IX, n. 15, 1885).

progredito dal punto in cui lo avea lasciato Laveran, quando comparve il lavoro magistrale di Golgi sulla quartana (1) che lo indirizzò sopra una nuova via. Sino allora si conosceva più o meno bene una congerie di forme che si supponevano fasi diverse dello stesso parassita, ma ben poco si sapeva sulla loro successione e sui loro rapporti coi diversi tipi di febbre malarica. È merito di Golgi di aver richiamato l'attenzione degli osservatori sopra un regolare ciclo evolutivo dei parassiti malarici, sulla corrispondenza di tale ciclo colla successione periodica degli accessi febbrili e di averlo descritto in tutte le sue fasi nella quartana e nella terzana.

Esaminando metodicamente a brevi intervalli il sangue di individui affetti da quartana semplice, durante l'accesso febbrile e nei giorni di apiressia, egli trovò che entro il periodo decorrente da un accesso all'altro i parassiti si sviluppano gradualmente dentro i globuli rossi passando dalle iniziali forme ameboidi non pigmentate alle forme pigmentate, le quali progressivamente si ingrossano, appropriandosi la sostanza globulare, fino a che, toccata una certa fase evolutiva, vanno incontro ad una segmentazione la quale accade in corrispondenza o poco prima dell'inizio della febbre. Per effetto di tale processo segmentativo hanno origine nuove generazioni di parassiti, i quali invadendo altri globuli rossi e ricominciando il ciclo portano seco altri successivi accessi, mentre il residuo di melanina derivante dalla distruzione dell'emoglobina e rimasto libero per il fatto della segmentazione, viene alla sua volta distrutto dai globuli bianchi ed elementi contrattili del parenchima di taluni organi (milza, fegato, ecc.). Ogni accesso febbrile perciò nella quartana è in rapporto collo sviluppo di una generazione di parassiti il quale avviene in tre giorni; le quartane duplicate e le triplicate (alcune quotidiane) sono in rapporto col ciclo evolutivo di due o tre generazioni che maturano con un giorno d'intervallo tra loro. Si veniva così a conoscere e distinguere dalle altre le forme che fanno parte del ciclo evolutivo di una varietà di parassiti, quella della quartana.

(1) C. Golgi, « Sull'infezione malarica ». Comunicazione fatta alla R. Accademia Medica di Torino nella seduta del 20 novembre 1885 (*Giornale della R. Accad. med.*, vol. XXXIII, 1885, pag. 734). Lavoro in esteso *Archivio per le scienze mediche*, vol. X, 1886.

Le osservazioni di Golgi furono confermate da Marchiafava e Celli (1) e in parte da Councilman (2).

Più tardi il Golgi (3) scopriva il ciclo evolutivo di una seconda varietà di parassiti, quella della terzana, la quale compie il suo sviluppo nel periodo di due giorni. Anche questo parassita è rappresentato da organismi ameboidi, i quali invadendo i globuli rossi, entro questi gradatamente si sviluppano nel periodo decorrente da un accesso all'altro, e appropriandosi la sostanza globulare e trasformando la emoglobina in melanina, attraversano le diverse fasi di corpo ameboidi pigmentato fino a raggiungere la fase della segmentazione (coincidente coll'inizio della febbre), da cui traggono origine altri piccoli corpi ameboidi destinati ad annidarsi entro altri globuli rossi per ricominciare il ciclo. Le terzane duplicate corrispondono a due generazioni parassitarie raggiungenti il completo sviluppo con un giorno di distanza. I parassiti della terzana offrono note biologiche e morfologiche tanto speciali e caratteristiche che si può con sicurezza distinguerli da quelli della quartana.

La riprova della verità delle leggi di Golgi si ha in ciò che dal semplice esame del sangue degli ammalati, tenendo conto dei caratteri differenziali delle due varietà parassitarie e delle loro diverse fasi di sviluppo, si può dare *un giudizio preventivo oltre che sulla forma clinica, anche sul numero delle ore decorse dalla febbre, sul giorno del nuovo accesso, sulla mancanza di poche o molte ore all'insorgenza di questo*. Secondo Golgi le numerose varietà di febbri intermittenti che soglionsi annoverare sono in grandissima maggioranza semplici varietà o combinazioni dei due tipi terzana e quartana; egli ammette però l'esistenza di altri tipi di febbre legati allo sviluppo di altre varietà di parassiti malarici per es. delle semilune di Laveran.

Io avevo già incominciato le mie ricerche sulla malaria

(1) E. Marchiafava e A. Celli, « Sulla infezione malarica », *Archivio per le scienze mediche*, vol. XII, pag. 153.

(2) W. J. Councilman, « Neuere Untersuchungen über Laveran's Organismus der Malaria », *Fortschritte der Medizin*, Bd. 6, n. 12 e 13, 1888.

(3) E. Golgi, « Ancora sull'infezione malarica », *Gazzetta degli Ospitali*, n. 53, 1886, con figure in zincotipia intercalate nel testo.

— « Sul ciclo evolutivo dei parassiti malarici nella terzana », *Archivio per le Scienze mediche*, vol. XIII, 1889.

quando venni a conoscenza di una comunicazione fatta dal Golgi il 6 aprile del corrente anno alla società medico-chirurgica di Pavia, sulle febbri intermittenti a lungo intervallo (5-6-8-10-12-15 giorni), nella quale affermava l'esistenza di questo tipo di febbri negato da molti clinici, e diceva che i *parassiti malarici da cui le medesime forme febbrili dipendono erano rappresentati dalle accennate forme semilunari di Laveran*, il cui ciclo evolutivo *non compiesi entro un limite di tempo costante e ben determinato*.

Non essendo ancora pubblicato il lavoro del Golgi e non conoscendosi perciò ancora le fasi del ciclo evolutivo da lui osservato, ho creduto non inutile la pubblicazione delle osservazioni fatte da me indipendentemente da Golgi.

Io ho fatto le mie ricerche nell'Ospedale Militare di Roma sui soldati ammalati di malaria, provenienti specialmente dai forti che circondano la città. Grazie alla cortesia dei miei colleghi militari mi sono trovato in condizioni molto favorevoli per questo studio, poichè di quasi tutti gli ammalati ho potuto conoscere esattamente la storia della malattia e l'esito ultimo di questa. Ho incominciato le ricerche verso la metà di giugno e le ho proseguite fino alla fine di ottobre, studiando così le febbri malariche che hanno dominato quest'anno nei dintorni di Roma in estate e autunno. Non meno di mille malarici sono stati curati in questo periodo nell'ospedale militare, *il piano di ricerche però da me seguito non mi ha permesso di esaminarne che sessantatre*. Difatti volendo esaminare metodicamente il sangue degli ammalati giorno per giorno e, più spesso, ora per ora ed anche a intervalli più brevi dal momento in cui venivano accettati nell'Ospedale fino a quando venivano licenziati, alcuni ammalati ho dovuto tenerli in esame per oltre un mese, e non ho avuto tempo perciò di studiarne un numero maggiore.

Nota per incidenza che avendo nello stesso tempo esaminato rigorosamente il sangue di venti individui sani od ammalati delle malattie più svariate all'infuori della malaria (tifo, tubercolosi, reumatismo articolare, ecc.) non ho mai trovato nulla che si potesse confondere colle forme dei parassiti della malaria.

I miei sessantatre ammalati non furono scelti, ma presi a

caso tra quelli che mano mano si presentavano all'ospedale. Di essi due soffrivano di febbre a tipo quartanario semplice, tre di *terzana semplice*, e cinquantotto di febbre a tipo quotidiano o irregolare (subcontinue, subentranti, perniciose). Tralasciando per ora i casi di quartana e *terzana*, gli altri 58 casi si possono dividere in due gruppi, fino a un certo punto distinti anche clinicamente, ai quali corrisponde un reperto diverso nei parassiti del sangue.

Il primo gruppo è rappresentato da febbri ad accessi per lo più quotidiani, i quali incominciano quasi sempre con brivido marcato e sono relativamente di breve durata (6-12 ore). Negli intervalli fra un accesso e l'altro vi è completa apiressia e senso di benessere nel malato. Il chinino ha troncato quasi sempre in poco tempo la malattia, anzi talvolta è bastato il riposo dell'ospedale per guarirla. In queste febbri, di cui ho studiato quindici casi, non ho trovato nel sangue che le varietà parassitarie studiate dal Golgi nella quartana e nella *terzana*; esse rappresentavano cioè quartane triplicate, *terzane* duplicate o combinazioni dei due tipi. La maggior parte dei casi appartenenti a questo gruppo occorsero dal 15 giugno al 15 agosto.

Il secondo gruppo, al quale spettano gli altri 43 casi studiati, comprende febbri ad accessi ordinariamente lunghi (12-36 ore e più) i quali le prime volte per lo più incominciano con brivido intenso e prolungato, ma che col ripetersi mancano del brivido iniziale sicchè gli ammalati non sanno indicare con precisione quando la febbre incominciò. Disturbi gastroenterici accompagnano soventi queste febbri ed una cefalea intensa tormenta gli ammalati anche nei periodi di apiressia. Gli accessi non si succedono a periodi regolari, ordinariamente tra un accesso e l'altro non intercedono che poche ore di apiressia, talvolta non si ha che una semplice remissione ed il quadro clinico simula quello di una febbre tifoidea. In principio di malattia può accadere che gli accessi si succedano a giorni alterni regolarmente, simulando un tipo di *terzana*, oppure tutti i giorni come in una *terzana* duplicata, ma dopo cinque o sei accessi il tipo si fa completamente irregolare. Se si ha cura di tener dietro alla storia del malato si vede che per lo più anche quando con generose dosi di chinino somministrate per iniezione intramuscolare si riesce a troncare la febbre, la guarigione non è che apparente,

giacchè dopo 8-10-15 giorni si hanno delle ricadute e gli accessi continuano poi a ripetersi a lunghi intervalli talvolta con qualche regolarità. Queste febbri possono dare in pochi giorni delle cachessie. In questo gruppo entrano le febbri perniciose e le cosiddette subcontinue e subentranti.

In 40 di questi ammalati, all'esame del sangue tolto dal polpastrello delle dita colle solite cautele, non ho mai trovato le forme parassitarie della quartana e della terzana, ma unicamente le forme di una terza varietà di parassita malarico del quale ho potuto studiare l'evoluzione ed al quale credo si debba dare il nome di *varietà delle forme semilunari*, dalla forma più caratteristica del suo sviluppo, che meglio si distingue da quelle delle altre due varietà studiate dal Golgi. In tre casi ho trovato le forme semilunari in compagnia dei parassiti della quartana o terzana. In questi però non ho potuto fare che osservazioni saltuarie, per ora perciò non tengo più conto di questi 3 casi, riserbandomi di ritornare sullo studio di queste combinazioni quando potrò disporre di un maggior numero di casi ben esaminati.

Le forme semilunari del Laveran non si presentano però nel sangue, almeno in quello della cute, che dopo ripetuti accessi febbrili; ordinariamente nei casi da me studiati comparivano dal 15° al 30° giorno dopo il primo accesso, in un solo caso ho potuto vedere la comparsa delle semilune al 7° giorno di malattia e al 4° accesso febbrile. Si trattava di un soldato, certo Rinaldo Mariotti da Catanzaro, il quale non aveva mai sofferto febbri da malaria e che potei avere in esame fin dal secondo accesso.

Il fatto importante però è che quando si segue l'esame del malato, come ho potuto fare io, per un tempo piuttosto lungo, ed anche dopo l'apparente guarigione, *le forme semilunari compaiono quasi costantemente* nunzie per lo più di nuovi accessi febbrili e viceversa: *trovando le forme semilunari nel sangue di un malato si può con certezza affermare che ha sofferto già altri (ordinariamente parecchi) accessi di queste febbri irregolari.*

Dei miei 40 ammalati di febbri del 2° gruppo ho potuto constatare in 24 la fase delle semilune, in 16 non le trovai, ma si trattava precisamente di ammalati che avevo potuto esaminare soltanto per due o tre giorni in principio di malattia. Però, essendo la ricaduta, come dissi, la regola generale di

queste febbri, alcuni di questi 16, giunti al reggimento ebbero altri accessi febbrili, ed in due che furono rimandati all'ospedale potei constatare la presenza delle semilune. Alcune volte è capitato che ammalati, nei quali in principio di malattia non avevo trovato le semilune, stavano per esser licenziati dall'ospedale dopo 10 o 15 giorni di apiressia, quando riesaminando il sangue vi ritrovavo le forme semilunari.

Anche in questo gruppo di febbri vale la legge di Golgi che all'inizio di ogni accesso febbrile corrisponde la maturazione di una generazione di parassiti, però i primi accessi sono in corrispondenza con un ciclo di sviluppo rapido e accelerato del parassita, gli accessi che vengono più tardi corrispondono ad un ciclo dello stesso parassita che si svolge più lentamente e del quale sono una fase le forme semilunari. Tanto il primo ciclo quanto il secondo hanno per punto di partenza il parassita aneboide non pigmentato e per ultima fase la scissione o sporulazione, il parassita cioè penetrato dentro il globulo vi si sviluppa trasformando l'emoglobina in melanina e attraverso una serie di metamorfosi differenti nei due cicli giunge alla segmentazione.

Lo studio del *primo ciclo* è reso molto difficile da ciò che per lo più si trovano nel sangue contemporaneamente più generazioni di parassiti a diverso stadio, le quali preparano altrettanti accessi febbrili distinti o sovrappoventisi, e da ciò che non si può ritardare la somministrazione del chinino agli ammalati senza pericolo stante la tendenza di queste febbri ad aggravarsi. È per queste ragioni che la durata di esso non si può sempre precisare bene, pare però che ordinariamente non sia minore di due giorni. In qualche raro caso ho trovato che il ciclo si svolgeva in 24 ore; certo è che non ha una durata costante e che può variare non solo da individuo a individuo ma anche da un accesso all'altro nello stesso individuo.

I casi più opportuni per lo studio della successione delle forme del *primo ciclo* sono quelli in cui, come ho detto, la febbre incomincia colla forma di una terzana e gli accessi si succedono ogni due giorni regolarmente. In tali casi nel sangue non si trova che una generazione di parassiti allo stesso stadio di sviluppo, la quale giunge a maturazione nel periodo di due giorni e che si può seguire da un accesso all'altro in tutta la sua evoluzione.

Nello svolgimento di questo ciclo si possono distinguere due fasi:

*1ª fase.* Esaminando a fresco il sangue in uno di questi casi tipici nelle prime tre o quattro ore dell'accesso si trovano i parassiti dentro i globuli rossi all'inizio del loro sviluppo. La maggior parte di essi, già dopo pochi minuti dalla presa del sangue, si presenta allo stato di riposo o con movimenti ameboidi molto lenti anche quando la temperatura dell'ambiente sia piuttosto elevata (30°-32° C.). In questo stato sono di forma rotondeggiante, molto piccoli, il loro diametro essendo presso a poco 1/6 di quello dei globuli rossi, sono perciò più piccoli dei parassiti non pigmentati della *terzana*. Questo carattere della notevole piccolezza è quello che colpisce di più l'osservatore il quale possa fare un confronto colle forme corrispondenti della *terzana* e *quartana*. Allo stato di riposo presentano distinte una parte centrale più oscura (*entoplasma*), che per la sua forma e posizione rassomiglia ad un nucleo, ed una parte anulare periferica più chiara (*ectoplasma*). La parte d'apparenza nucleare forma per lo più una massa rotonda che sta al centro od anche eccentricamente, in qualche parassita però invece di essa si vedono due o tre punti più oscuri i quali apparentemente sono isolati l'uno dall'altro. Allo stato di riposo il limite tra il parassita e la sostanza del globulo è per lo più netto. Soventi si vedono i parassiti eseguire dei movimenti di traslazione da un punto all'altro del globulo senza deformarsi notevolmente. Questo movimento si rende manifesto soprattutto quando si trovano due o tre parassiti dentro lo stesso globulo (caso non tanto raro) i quali si muovono da un punto all'altro disponendosi variamente. I globuli che ospitano i parassiti sono in parte normali in parte raggrinzati, piccoli; qualche volta la maggior parte dei globuli attaccati dai parassiti appartengono a questa categoria. Non è molto raro anche di trovare in questo stadio qualche parassita libero nel plasma sanguigno e presentante pur esso una parte centrale più oscura ed una periferica più chiara. A mano a mano che ci allontaniamo dall'inizio dell'accesso i parassiti si vanno ingrossando leggermente ed i loro movimenti ameboidi pare si facciano più vivaci. Più spesso capita allora di vedere parassiti nei quali invece di una massa entoplasmica si trovano due, tre o più globetti oscuri (fig. 190) e di trovare l'entoplasma formato da due globetti uniti per

un sottile tratto di sostanza (fig. 18). In questi parassiti alquanto sviluppati la parte periferica anulare allo stato di riposo si presenta talora splendente.

Quando i parassiti si sono alquanto ingranditi incomincia a vedersi nella loro zona anulare qualche finissimo granolino di pigmento rosso-scuro o nero. La comparsa del pigmento avviene più o meno presto secondo i casi e forse è in rapporto colla durata maggiore o minore del ciclo. In un caso di febbre in cui il parassita compì la sua evoluzione in 26-28 ore e nel quale l'accesso febbrile durò 8 ore, trovai qualche parassita con granolini di pigmento soltanto nel periodo di apiressia, 14 ore dall'inizio dell'accesso. Nell'esame successivo fatto due ore dopo i parassiti pigmentati erano in numero all'incirca uguale ai non pigmentati e passate altre sei ore, vale a dire 20 ore dall'inizio dell'accesso, tutti i parassiti contenevano pigmento. In un altro caso nel quale il ciclo evolutivo durava 48 ore, vidi un solo parassita con due granolini di pigmento in tutto un preparato, tra i numerosissimi parassiti non pigmentati, dodici ore dal principio dell'accesso, quando questo stava per cessare; dopo altre sette ore (apiressia) i pigmentati erano in numero presso a poco uguale ai non pigmentati e, passate altre due ore i primi predominavano grandemente. I granolini di pigmento vanno aumentando in numero ed in grossezza pur rimanendo sparsi nel corpo del parassita, mentre questo si va pure ingrossando, ma ordinariamente non passano il numero di 6-7 granuli. Fino a questo punto il parassita conserva i suoi movimenti ameboidi, presenta l'entoplasma visibile e i granuli di pigmento sparsi, ed il globulo è non ancora molto sbiadito (fig. 1 e 6).

2<sup>a</sup> fase. La prima fase è la più lunga del ciclo, poichè si estende fino a poche ore prima del nuovo accesso, il numero dei parassiti che si trovano nel sangue circolante è molto maggiore di quello che si trova nella fase successiva. Già alla fine della 1<sup>a</sup> fase vi è una notevole diminuzione la quale si fa però spiccatissima nella 2<sup>a</sup>. Ciò si può spiegare colla distruzione dei parassiti e col fatto che probabilmente gli ultimi stadi della evoluzione si compiono in organi profondi. Quest'ipotesi trova un appoggio nell'osservazione fatta da Marchiafava della presenza di abbondantissime forme di scissione nei capillari del cervello in taluni casi di febbre perniciosa nei quali all'agonia il sangue della cute non ne

presentava. La difficoltà di trovare le forme dell'ultima fase si spiega anche colla rapidità con cui si succedono, avvenendo talora la loro evoluzione in due o tre ore. Per dare un'idea della difficoltà di questa ricerca dirò che quando i parassiti non sono molto numerosi nella prima fase, bisogna molte volte esaminare un preparato per due o tre ore continue facendolo scorrere campo per campo coll'apparecchio regolatore di Zeiss prima di trovare una o due forme di scissione.

In questa seconda fase i granuli del pigmento si presentano raccolti in un gruppetto o in un grosso granulo immobile il quale si trova situato nel centro del parassita o alquanto eccentricamente; il parassita si ingrossa e perde i movimenti ameboidi e la parte entoplasmica non si distingue più dall'ectoplasma. Il corpo del parassita è più chiaro ed ha in principio un contorno leggermente sinuoso che in seguito si va facendo sempre più regolare. Il limite tra il parassita e la sostanza globulare apparisce ben netto. Mano mano che il parassita si va appropriando la sostanza dell'emazia questa impallidisce e ben presto rimane completamente incolore (fig. 7-10 A). Indi alla periferia del parassita incominciano a segnarsi delle linee raggiate che accennano ad una segmentazione. Il parassita in segmentazione è ordinariamente più piccolo di un globulo rosso e dei corrispondenti corpi della quartana e terzana, e si presenta formato da 6-8-10 corpiccioli rotondi o leggermente ovalari disposti attorno ad un gruppetto di granuli pigmentari od anche ad una pallottolina molto piccola e regolare di pigmento. Non sempre questo occupa la parte centrale, talvolta si trova da un lato della massa in scissione. Della sostanza del globulo rosso ora non si vede più traccia, ora si trova un avanzo completamente sbiadito sotto forma di alone tutt'attorno o solo da un lato del parassita; mi è occorso pure di trovare un corpo in incipiente scissione circondato ancora da una zona di globulo rosso che conservava parte della sua emoglobina.

Un carattere spiccato del parassita in questo ciclo che basta sovente per distinguerlo da quelli della quartana e della terzana è la scarsità del pigmento anche nei suoi ultimi stadi, *io non ho mai però trovato casi di febbre in cui mancasse lo stadio dei parassiti pigmentati*. Così pure per le mie osservazioni non potrei ammettere che avvenga la segmentazione senza la pregressa formazione di pigmento. Anche quando non

ho avuto la fortuna di sorprendere coll'esame del sangue il momento della scissione, ho trovato costantemente nelle prime ore dell'accesso successivo dei globettini di pigmento, identici a quelli che si trovano nelle forme in scissione, o liberi nel plasma (talora attaccati a 2-3 corpiccioli provenienti dalla scissione) oppure contenuti nel corpo dei leucociti (fig. 20-21 C).

Le forme di questo primo ciclo furono finora descritte (alcune appena accennate) alla rinfusa perchè tali difatti si presentano ordinariamente, trovandosi per lo più, come ho detto, in questi ammalati contemporaneamente più generazioni di parassiti a diverso stadio di sviluppo le quali preparano più accessi che si succedono o anche si continuano.

Oltre ai leucociti melaniferi si trovano nel sangue di questi malarici, come pure in quello dei malati di terzana e quartana dei leucociti carichi di corpicciuoli rotondeggianti splendenti, di grandezza varia, che mascherano molte volte il nucleo del globulo. Talvolta insieme a questi corpicciuoli si trovano dei blocchi o granuli di pigmento, talvolta non ve n'è affatto. Probabilmente essi sono l'avanzo della distruzione dei parassiti da parte dei leucociti (fig. 22 C).

Continuando l'esame degli stessi ammalati in cui avevo studiato il primo ciclo ho potuto seguire dopo più accessi febbrili lo svolgimento del secondo ciclo caratterizzato dallo stadio delle forme semilunari. Devo notare che gli ammalati che mi servirono a questo studio erano stati sottoposti alla cura del chinino, ciò che probabilmente non è senza influenza sullo sviluppo più o meno rapido del ciclo.

Talvolta le forme semilunari compaiono in mezzo a quelle del ciclo rapido, quando cioè gli accessi febbrili si succedono ancora a brevi intervalli: pare in questi casi che mentre la maggior parte dei parassiti continua a svilupparsi secondo il primo ciclo, una piccola parte di essi incominci la via più lunga del secondo; talora invece, cessata per il chinino la febbre dovuta al ciclo rapido, si vedono comparire le semilune.

Il ciclo delle semilune si può dividere in quattro fasi, che corrispondono ai corpi ameboidi, corpi semilunari e corpi ovali, corpi rotondi e flagellati e corpi in scissione.

La prima fase è nei primi stadi identica a quella del ciclo rapido di questa varietà parassitaria. Dalle piccolissime forme

ameboidi non pigmentate, identiche nei due cicli, si passa in un periodo di tempo più o meno lungo a quelle ameboidi più grosse contenenti qualche granulo di pigmento (fig. 1-5 *B*).

Quindi il pigmento si raccoglie immobile a mucchietto in un punto centrale od eccentrico del parassita, il corpo di questo si fa più chiaro, perde i movimenti ameboidi, non presenta più l'eutoplasma visibile ed ha un contorno netto e regolare. A questo punto il parassita occupa da 1/3 a metà del globulo il quale, mano mano che aumenta la quantità di pigmento nel parassita, si va decolorando. Il parassita prende in seguito una forma allungata ovalare (fig. 7-8 *B*) col pigmento raccolto nella sua parte centrale, e poi incomincia a incurvarsi. Esso non è ancora addossato al margine del globulo, vi si trova però ordinariamente vicino, e per effetto dell'accrescimento vi si avvicina sempre più finchè il bordo convesso del parassita si confonde coll'orlo del globulo. Questo, quantunque impallidito, conserva però ancora una parte del suo colore gialliccio. Continuando l'accrescimento del parassita si vede che il suo corpo ha una certa consistenza più grande di quella del globulo, giacchè il globulo (fig. 11 *B*) che lo contiene e che conserva ancora una sfumatura di colorazione gialla, segue l'allungamento della semiluna prendendo una forma ovale e, picchiando leggermente con un ago sul preparato, il globulo si vede a formare delle pieghe, mentre la semiluna rimane ben distesa. Quando la semiluna ha ridotto tutta l'emoglobina in melanina, lo stroma del globulo appare ancora col suo contorno come una linea sottilissima curva o a zig-zag che riunisce le estremità della semiluna (fig. 12-13 *B*).

Qualche rara volta la semiluna si sviluppa colla sua convessità rivolta al centro del globulo (fig. 9 *C*) ed allora nello sviluppo ulteriore scomparendo l'emoglobina, la linea arcuata che segna l'avanzo del globulo si trova sulla convessità di essa (fig. 10 *C*).

Quando il globulo ha perduto completamente la sua emoglobina, o quando è distrutto del tutto, la semiluna per lo più presenta un doppio contorno, visibile anche senza colorazione e che sembra l'espressione di una membrana esterna. Il doppio contorno spicca specialmente nei preparati fatti da qualche ora o fissati coll'acido osmico.

Proseguendo l'esame del sangue del malato dopo la com-

parza delle forme semilunari compaiono successivamente i corpi allungati, i corpi ovali ed i corpi rotondi. Sulla derivazione dei corpi ovali (fig. 15 B) e corpi rotondi (fig. 16 B) dai corpi semilunari mi pare non vi possa esser dubbio perchè in tutti i casi studiati la loro comparsa fu preceduta, talvolta di 3-4 giorni, da quella dei corpi semilunari.

Però i corpi ovalari allungati (fig. 14 B) talora compaiono contemporaneamente od anche prima dei corpi falciiformi, per cui ritengo che essi possano anche passare dalle forme endoglobulari alla forma libera senza aver subito l'incurvamento a semiluna. Tanto i corpi allungati quanto i rotondi possono avere o no il doppio contorno e per lo più presentano lateralmente un avanzo dello stroma del globulo.

Nel passaggio dalla forma semilunare alla rotonda pare che non avvenga un ingrandimento del parassita, ma semplicemente un cambiamento di forma. Nella semiluna il pigmento è immobile, centrale e disposto a gruppo, più raramente a corona, nei corpi rotondi invece è soventi in vivace movimento molecolare e quasi sempre a corona; questa disposizione di corona però non è che apparente, giacchè nei preparati non molto schiacciati, sollevando ed abbassando colla vite micrometrica il tubo del microscopio, si può vedere che i cristalli o granuli di pigmento sono disposti in istrato continuo tappezzante probabilmente la superficie interna di un corpicciolo rotondo. Questo corpicciolo si mostra talora evidente quando è avvenuta la sporulazione del corpo rotondo. Del resto è molto probabile che anche nelle semilune il pigmento sia contenuto dentro un corpicciolo, giacchè nella parte da esso occupata, anche senza colorazione si può talora notare un differenziamento dal resto del corpo semilunare (fig. 4 C); questo corpicciolo si distenderebbe nel passaggio dalla forma semilunare alla rotonda.

Una volta mi occorre di trovare un corpo rotondo a doppio contorno contenuto dentro un globulo il quale conservava ancora una leggerissima tinta gialla (fig. 6 C). Ciò tenderebbe a dimostrare che può avvenire un passaggio dalle semilune ai corpi rotondi anche prima che il globulo sia in gran parte disfatto, il che sarebbe pure confermato dai corpi rotondi piccoli che talora si trovano (fig. 7 C) contenuti in un globulo sbiadito ma a contorno ben conservato.

Nelle forme semilunari che hanno raggiunto lo stadio di

corpi rotondi può avvenire la sporulazione, fatto che prima di me nessuno aveva osservato.

Seguendo cioè l'esame del sangue dopo la comparsa dei corpi rotondi si possono trovare prima dell'accesso febbrile o di una elevazione di temperatura alcuni di questi corpi simili in tutto a quelli provenienti dalle semilune, contenenti in numero vario, per lo più 8-10, corpiccioli piccoli rotondi o leggermente ovalari, i quali hanno la parte centrale più oscura, di modo che la parte periferica dà l'aspetto di un contorno doppio. Il corpo rotondo in sporulazione talora ha un doppio contorno evidente o presenta un avanzo di globulo sbiadito ed un corpicciolo esterno come quelli che si trovano attaccati soventi ai corpi rotondi ordinari, talvolta non si riesce a distinguere il doppio contorno o manca l'avanzo del globulo. Il pigmento ora si presenta in forma di blocco che sta in mezzo ai corpiccioli figli, ora e più soventi i cristalli o granuli sono disposti a corona nel mezzo e più frequentemente verso un polo del corpo. Qui si vede bene talvolta che il pigmento è contenuto in un corpicciolo, giacchè avviene che questo si trovi spostato e sporgente dal margine del corpo sporulante col pigmento ridotto alla metà interna e col contorno dalla parte sporgente ben visibile (fig. 17 B). Come prodotto immediato della scissione devono considerarsi i gruppi di corpiccioli liberi che accade di trovare in questo stadio, irregolarmente raccolti presso un avanzo di pigmento.

Quantunque non mi sia mai capitato di assistere durante l'osservazione microscopica alla segmentazione dei corpi rotondi, come accade invece per le forme di scissione della terzana e quartana, pure sia per il loro aspetto, sia per il loro rapporto coll'inizio dell'accesso, ritengo che i corpi testè descritti rappresentino forme di sporulazione.

Non si potrebbe affermare che questo sia l'unico modo di riproduzione delle forme semilunari. Fu già ammessa per esse una specie di gemmazione, della quale sarebbero un prodotto i corpiccioli che si trovano soventi attaccati ai corpi rotondi e qualche rara volta anche ai corpi falceiformi e non è improbabile che esistano altri modi di moltiplicazione.

Avvenuta la sporulazione, ricompaiono nei globuli rossi in coincidenza con l'accesso febbrile le forme iniziali ameboidi le quali incominciano il ciclo delle semilune.

La durata di questo secondo ciclo varia da caso a caso. Per

lo più per giungere dalla fase iniziale ameboide alla formazione dei corpi semilunari non occorrono meno di tre o quattro giorni; dopo la comparsa delle semilune, o nello stesso giorno o nel giorno successivo possono già trovarsi dei corpi rotondi i quali possono persistere anche essi più o meno lungamente prima di esser distrutti o di passare alla sporulazione. Tutte queste forme in generale dalle semilunari alle rotonde pare che possano restare per molti giorni nel sangue stazionarie prima di passare alla forma successiva.

Come per le forme del primo ciclo anche per queste è molto più frequente di trovare nel sangue dell'ammalato più generazioni di parassiti contemporaneamente a diverso stadio di sviluppo. Così seguendo l'esame di un ammalato che dopo il periodo acuto era colto dagli accessi a intervalli di parecchi giorni, trovai nei primi giorni di apiressia molti parassiti allo stadio ameboide non pigmentati o leggermente pigmentati con rare forme semilunari, quindi scomparvero per tre giorni le forme ameboidi completamente e comparirono invece le forme rotonde provenienti dalle semilune. Al terzo giorno dalla scomparsa delle forme ameboidi, quando cioè non si trovavano che semilune, corpi ovali o corpi rotondi, si notarono rarissime forme di scissione cui tenne dietro la comparsa di rare forme ameboidi con un accesso febbrile leggero che durò poche ore e non oltrepassò la temperatura di 38.5. Dopo cinque o sei ore di apiressia ( $T = 36.8$ ) sopravvenne un nuovo accesso molto più forte del primo annunziato esso pure dalle forme di sporulazione.

Quando gli accessi si succedono a lunghi intervalli avviene di trovare ogni pochi giorni nel sangue del malato nel periodo decorrente da un accesso all'altro scarsi parassiti ameboidi non pigmentati, e se si ha cura di far procedere di pari passo all'esame del sangue la misura della temperatura del malato si trova che in coincidenza colla loro comparsa si ha una elevazione di temperatura fino a 37.5-37.8-38; è avvenuta cioè la sporulazione di un piccolo numero di parassiti insufficiente a produrre un accesso forte. Di questi leggeri accessi gli ammalati non si accorgono quasi, ma anche clinicamente si può notare l'anemia e il deperimento progrediente di tali ammalati malgrado che essi accusino soltanto un senso di debolezza.

Non è da confondersi colla *sporulazione* un processo di *degenerazione* delle semilune che non di rado si incontra in

queste ricerche. È un processo che si può vedere sia nelle forme semilunari che nelle ovali e rotonde, ma più frequentemente nelle prime.

Si trovano cioè dei corpi i quali hanno perduto il loro colore gialliccio o cenerognolo e si sono fatti più chiari, talvolta splendenti, col doppio contorno spiccante nettamente molto più di quel che si possa vedere nei parassiti ordinari, e colla propria sostanza trasformata in una massa di corpiccioli rotondi, od irregolari, per lo più di grandezza diversa e a contorno semplice. Prolungando l'osservazione microscopica di uno di questi parassiti si vedono talora nello spazio di pochi minuti due o tre dei globetti fondersi in uno più grosso e formarsi così dei blocchi irregolari i quali fondendosi alla loro volta insieme danno al corpo parassitario un aspetto uniforme in cui non si distingue più traccia di globetti (fig. 11 e 12 C). Il pigmento ora si trova disposto a corona centrale ora è irregolarmente sparso in una estremità o da un lato del corpo. I caratteri per cui questo processo si distingue dalla sporulazione sono: lo splendore del corpo in degenerazione, l'ineguaglianza dei globetti, la mancanza in questi di una parte centrale più oscura, la loro fusione in masse irregolari e poi in una massa amorfa. Queste forme di degenerazione si trovano anche nei periodi di perfetta apiressia, e la loro comparsa non è seguita da elevazione di temperatura o dalla apparizione delle forme ameboidi nei globuli; non rappresenterebbero quindi che un fenomeno cadaverico dei parassiti.

Una volta occorre anche a me come già ad Osler di trovare un leucocito contenente una intera semiluna, ciò che confermerebbe sempre più il fatto oramai assodato che la morte o la distruzione dei parassiti può avvenire a qualunque stadio del loro sviluppo.

I corpi flagellati costituiscono una fase, che per ora non possiamo dire costante, di questa varietà parassitaria o meglio del 2° ciclo di essa, poichè non mi è mai capitato di trovare corpi flagellati durante il primo ciclo di sviluppo. Dopo la comparsa delle semilune però, se si può seguire l'esame dei malati a lungo, si è quasi certi di trovarli nel maggior numero dei casi, sempre però in compagnia di corpi rotondi.

Tra i miei 24 casi io li ho trovati in nove ammalati, precisamente in quelli che ho studiato più a lungo dopo la comparsa dei corpi rotondi.

I flagellati di questa varietà parassitaria sono rotondi, senza doppio contorno, ordinariamente più piccoli dei corpi rotondi senza flagelli, il che si potrebbe spiegare colla diminuzione della massa del corpo per la formazione dei flagelli. Essi hanno il pigmento apparentemente disposto a corona che giunge fino quasi alla periferia del corpo. In mezzo alla corona però si vede una tinta più scura, e abbassando il foco del microscopio si nota in tutta la superficie limitata dalla corona lo strato di cristalli pigmentari che la tappezza. Il pigmento ora è immobile ora vivamente danzante. Alla periferia del corpo si vedono soventi attaccati 1-2-3 globetti come quelli dei corpi rotondi. Talvolta durante il movimento dei flagelli il corpo emette e retrae alla sua periferia una linguetta protoplasmatica lunga  $1/3-1/4$  del suo diametro, la quale forse indica il primo passo alla formazione del flagello. I flagelli sono per lo più da 1-4, presentano nel loro decorso nodosità olivari e terminano con un rigonfiamento talvolta molto grosso (fig. 14 C).

I flagellati si presentano per lo più poche ore prima dell'inizio dell'accesso febbrile, talvolta anche durante l'apiressia a molta distanza da esso; certamente questi corpi rappresentano uno stadio della fase adulta del parassita, giacchè non li ho mai veduti comparire nel sangue prima della formazione dei corpi rotondi.

Ho già notato a proposito del primo ciclo di sviluppo come le forme dell'ultima fase siano le più rare nel sangue della cute. In quanto alle forme del secondo ciclo ho trovato che le più facili a riscontrarsi nel sangue della cute sono le ameboidi non pigmentate o contenenti solo qualche granolino di pigmento, le forme semilunari ben sviluppate, le ovali e le rotonde. Le più rare sono le forme intermedie fra le ameboidi e le semilune (fig. 5-10 B), le forme in sporulazione e le flagellate. Questa diversità di frequenza delle diverse forme si può spiegare sia colla maggiore o minore rapidità con cui l'evoluzione si compie nei diversi stadi, sia con l'ipotesi che alcune fasi si svolgano di preferenza in organi speciali (milza, midollo delle ossa, fegato). Così il Connelman ha trovato i flagellati molto più frequenti nel sangue della milza che della cute e Danilewsky, studiando certi ematozoari delle tartarughe che hanno molta analogia con quelli della malaria,

ha trovato che alcune fasi del loro sviluppo si compiono quasi esclusivamente nel midollo delle ossa (1).

In quanto alla relazione del numero dei parassiti che si riscontrano nel sangue colla gravità dell'accesso febbrile da essi determinato, mi pare che esista un rapporto diretto, ma solo relativamente allo stesso animalato, vale a dire che nello stesso individuo ad un numero maggiore di parassiti corrisponde un accesso più grave.

Le febbri perniciose date da questa varietà parassitaria non differiscono dalle altre febbri di questo gruppo per le forme parassitarie che presentano. Nei due casi da me studiati si trovavano nel sangue numerosissimi parassiti appartenenti a diverse fasi del 2° ciclo, dalle ameboidi iniziali alle semilune e ai corpi rotondi in scissione, poichè si trattava di accessi (uno di perniciosa algida, l'altro di perniciosa comatosa) sopravvenuti in individui che soffrivano di febbri irregolari da circa un mese, ma certamente devono esservi delle perniciose primitive nelle quali l'esame del sangue non rivela che le fasi del primo ciclo.

Per le mie osservazioni mi pare che accanto alle due varietà di parassiti malarici della terzana e della quartana stabilite dal Golgi, si debba mettere questa terza varietà la quale comprende nei suoi due cicli di sviluppo tutte le altre forme parassitarie che non entrano nei cicli delle altre due ed è causa o da sola, o, molto raramente, in combinazione colle altre due varietà, di un gruppo importantissimo di febbri malariche (febbri irregolari, subcontinue, subentranti, perniciose, febbri a lungo intervallo) dalle quali provengono la maggior parte dei casi di cachessia malarica.

Che tutte le forme parassitarie passate in rassegna tanto nel 1° quanto nel 2° ciclo, dalle ameboidi non pigmentate alle flagellate e rotonde in scissione non siano che stadi della stessa varietà parassitaria lo dimostra il fatto dall'aver io potuto studiare tutta la successione di queste forme ripetutamente negli stessi animalati tenuti nell'ospedale lontani da cause di una nuova infezione, e il non aver mai trovato in essi le forme della quartana e della terzana.

1. B. Danilewski, « Recherches sur les hématozoaires de tortues », Kharkoff, 1889.

Il diverso ciclo di sviluppo che il parassita segue nei casi acuti e nei casi cronici è dovuto probabilmente alle cambiate condizioni nel corpo del malato.

Oltre agli altri argomenti anche il fatto, che tanto nel primo ciclo quanto nel secondo si tratta di parassiti molto resistenti al chinino, dimostra l'identità di esso nei due cicli. Grazie a questa resistenza noi siamo in grado nel maggior numero dei casi di seguire l'evoluzione del parassita fino allo stadio semilunare il quale costituisce, secondo me, una fase *normale* di esso.

Dobbiamo però ammettere che l'evoluzione può esser affatto troncata dalla terapia prima che il parassita inizi il 2° ciclo. Io ritengo però che i casi nei quali l'amministrazione del chinino tronca l'evoluzione ulteriore di tutti i parassiti, diventeranno tanto più rari quanto più si avrà occasione di studiare i malati dopo la guarigione, poichè in qualche caso il chinino tronca la febbre ma non impedisce l'ulteriore evoluzione di uno scarso numero di parassiti fino alle forme semilunari le quali poi scompaiono senza dar luogo a nuovi accessi febbrili.

Quantunque in questo gruppo di febbri, per la irregolarità nel periodo di sviluppo dei parassiti, non si possa fare un pronostico dal solo esame del sangue relativamente all'insorgenza più o meno vicina dell'accesso colla certezza e colla esattezza relativa con cui si fa nelle febbri dovute ai parassiti della terzana e della quartana, pure non di rado si può anche qui fare dal solo esame del sangue un pronostico abbastanza preciso, il cui avverarsi costituisce la più bella controprova delle leggi studiate. Talvolta questi pronostici hanno un'applicazione pratica a beneficio del malato. Così a me ed ai miei colleghi militari è accaduto qualche volta di esaminare alla vigilia della loro partenza il sangue di soldati, ritenuti guariti dal medico curante, i quali dovevano mandarsi in licenza di convalescenza, e di trovarvi un gran numero di semilune e corpi rotondi per cui pronosticavamo la vicinanza di un accesso. Sospesa infatti la partenza seguiva un accesso più o meno forte che senza il preventivo esame del sangue avrebbe sorpreso l'ammalato durante il viaggio.

I risultati delle mie ricerche differiscono in parte da quelli ottenuti da altri osservatori che si occuparono dello studio dei parassiti malarici e in particolar modo da coloro che fecero tali studi in Roma.

Diffatti James (1) confessa che le relazioni biologiche dei corpi semilunari e flagellati con le altre forme non sono ancora state scoperse.

Marchiafava e Celli trovarono i corpi flagellati un anno in 4 casi su 42 ammalati (2) ed un altro anno non li trovarono mai sopra 120 casi (3). Essi ammettono che la presenza del pigmento nei parassiti *può mancare anche in casi di infezione gravissima* (4) e che *spesso si trovano soltanto i parassiti non pigmentati dentro i globuli rossi e che la scissione accade anche nei parassiti non pigmentati*.

Celli e Guarneri scrivono che *le forme più rare da noi e perciò finora meno studiate* sono le semilunari (5), ed il Celli parlando più tardi, maggio 1889, di queste forme (6) dice: *in alcune febbri autunnali e ostinate si riscontrano qualche rara volta (in quest'anno 9 o 10 volte su circa 2000 casi) corpuscoli falciformi* (7).

Nella stessa memoria citata Celli e Guarneri a pag. 11 confessano che *nelle febbri anche intermittenti e coi soli piccoli plasmodi endoglobulari, non o pochissimo pigmentati, ancora non hanno potuto trovare una legge ciclica ben definita*.

Anche in una recentissima comunicazione preventiva (8) Marchiafava e Celli mostrano di non avere ancora affermato il rapporto di questo gruppo di febbri colle forme semi-

(1) *The medical Record*, Marzo 1888

(2) *Archivio per le Scienze mediche*, vol. IX, pag. 316.

(3-4) *Id.*, vol. X, pag. 200 e 210.

(5) Celli e Guarneri « Sull'etiologia dell'infezione malarica » *Atti della R. Accademia Medica di Roma*, anno XV., vol. IV, serie II, pag. 4 dell'estratto.

(6) Celli, « Dei protisti citofagi », (*Riforma Medica*, maggio 1889, pag. 29 dell'estratto).

(7) Anche nella recente pubblicazione del loro lavoro fatta nel 3° fasc del vol. XIII di questo *Archivio*, Celli e Guarneri a pag. 319 scrivono in nota: « le forme di questo secondo stadio, cioè quelle di Laveran, sono sempre, da noi, senza confronto le più rare a vedersi. Nella passata stagione malarica (Luglio-Novembre) su circa 2000 febbricitanti nei quali facemmo l'esame del sangue, non le trovammo che in 10 casi! ».

(8) « Sulle febbri malariche predominanti nell'estate e nell'autunno in Roma » (*Riforma Medica*, 13 settembre 1889, pag. 1281).

lunari giacchè scrivono: *nelle febbri estive e autunnali le piccole forme ameboidi endoglobulari costituiscono il reperto più ovvio e il più spesso unico.*

Del resto che non abbia ancora capito l'importanza delle forme semilunari e la loro relazione colla febbre lo ha espresso il Celli stesso nel rispondere al Golgi nella seduta del 24 settembre di quest'anno all'Associazione medica italiana in Padova, dicendo (1) *che non può ammettere per ora un rapporto intimo tra la febbre e le cosiddette semilune.*

Si sono avvicinati di più alla giusta interpretazione di queste forme parassitarie Antolisei ed Angelini (2), i quali recentemente espressero dopo Golgi l'opinione che *le semilune di Laveran stiano forme adulte provenienti dalle amebe, di una delle varietà dei parassiti malarici.*

Non sarà inutile fare rilevare che lo sviluppo delle semilune da me descritto e studiato passo passo coll'esame del sangue del malato è diverso da quello descritto da Marchiafava e Celli e Guarneri, come si può vedere anche confrontando colle mie le figure che essi danno di questo sviluppo (3), e che essi non videro mai le forme di sporulazione di questo ciclo (4). Celli e Guarneri non hanno seguito lo sviluppo dalle forme ameboidi non pigmentate alle semilune, essi hanno incominciato lo studio partendo dalle forme semilunari che si trovano già sviluppate dentro i globuli.

Questa diversità di risultati in osservazioni fatte nelle stesse stagioni e sullo stesso luogo si spiega facilmente per chi pensi che Marchiafava e Celli e Guarneri non seguirono come me lo studio degli ammalati per lungo tempo. Si capisce che volendo esaminare due mila ammalati in una sola stagione malarica non si possono afferrare che *episodi* del ciclo evolutivo dei parassiti malarici.

Nelle febbri prodotte dalle varietà parassitarie della terzana e quartana (20 casi) le mie osservazioni non sono che una

(1) *Riforma Medica*, 1880, n. 241, pag. 1445.

(2) *Riforma Medica*, n. 227, 30 settembre 1880, pag. 1350.

(3) *Archivio per le Scienze Mediche*, vol. IX, e lavoro citato di Celli e Guarneri.

(4) Celli e Guarneri. Lavoro citato, pag. 23 dell'estratto.

conferma di quelle di Golgi, richiamo perciò soltanto l'attenzione su qualche fatto. I primi ammalati di febbri quotidiane di questo gruppo entrati nell'ospedale nella 2ª metà di giugno, guarirono tutti dopo uno o due accessi senza bisogno della somministrazione di chinino. I corpi pigmentati prima numerosissimi in questi casi andarono mano mano diminuendo fino a scomparire del tutto al 2° o 3° giorno di apiressia.

Voglio rilevare che tra i miei 29 ammalati 5 non avevano mai sofferto febbri malariche (1 ammalato di terzana semplice e 1 di quartana semplice venuti in esame al 4° accesso febbrile, 3 di febbre quotidiana esaminati la prima volta al 4°, 6°, 7° accesso) il che tenderebbe a dimostrare sempre più che i parassiti della terzana e quartana sono varietà distinte da quella delle semilune fin da quando questi germi penetrano nell'organismo.

Golgi avea già notato che non è raro il caso in cui durante la stessa osservazione microscopica si assista alla completa segmentazione di corpi nei quali prima la divisione era appena o punto accennata. Ripetendo questa osservazione nei parassiti della quartana e della terzana ho notato alcune volte una particolarità sfuggita credo finora agli osservatori e che accresce le analogie di questi parassiti con altri esseri inferiori. Osservando un corpo prossimo a scissione (pigmento raccolto al centro, linee di segmentazione appena segnate) ad un certo punto i corpiccioli figli prima poco distinti, *d'un colpo come per scatto si allontanano* e talvolta in parte si sparpagliano nel campo microscopico in modo che alcuni sono separati da quelli che rimangono ammucchiati per un tratto di parecchi micromillimetri, talvolta invece si allontanano di poco e poi si riavvicinano come se una membrana elastica li trattenesse. In questo ultimo caso dopo *lo scatto* formano delle belle coroncine e margherite. Mi sono ripetutamente assicurato che questo *sparpagliamento* non è dovuto a correnti di liquido nel preparato o a movimenti di esso, facendo l'osservazione nelle migliori condizioni col preparato ed i globuli del campo microscopico in perfetta immobilità.

Probabilmente per l'ingrossamento rapido dei corpiccioli figli avviene qui un'improvvisa rottura di *un involuero*, della cui esistenza questo fatto sarebbe una prova, involuero che non sappiamo se sia proprio del parassita o appartenente al globulo. Questo fenomeno è analogo allo *scoppio degli spo-*

*rangi* che avviene nella sporulazione delle muffe ed altri esseri inferiori.

Anche a me capitò di trovare nella quartana rare forme di scissione a margherita contenute dentro globuli che conservavano gran parte della loro emoglobina come quella disegnata da Golgi nella fig. 34 del lavoro sulla quartana. In un caso di quartana triplicata mi occorse pure di vedere due o tre corpi in scissione i quali occupavano solo metà del globulo ed avevano il pigmento raccolto ad un polo di esso e i corpiccioli allungati disposti elegantemente a ventaglio; il globulo conservava ancora un leggerissimo colore gialliccio (fig. 16 C).

Golgi aveva già trovato che i corpi flagellati non sono soltanto una derivazione delle semilune, poichè li aveva veduti in un caso insieme alle forme parassitarie della terzana e quartana (1). Nei miei 20 casi io li ho trovati in tutto 10 volte sopra 5 ammalati (2 casi di terzana semplice, 3 casi di quotidiana rispettivamente quartane complicate con terzane). In due casi si trattava di individui i quali per la prima volta soffrivano di febbri malariche (1 terzana, 1 quotidiana). Contemporaneamente in qualche osservazione trovai flagelli liberi in movimento. Questi corpi flagellati sono più grossi ordinariamente di quelli della varietà semilunare, talvolta raggiungono un volume doppio di un globulo rosso, non hanno il pigmento disposto a corona, ma per lo più disseminato, ora in vivissimo movimento danzante, ora immobile. Talvolta presentano una massa centrale tempestata di granuli (fig. 15 C) o cristalli di pigmento in vivo movimento ed una zona esterna periferica di aspetto chiaro e quasi granuloso donde partono i flagelli. Continuando l'osservazione si vede che cessa il movimento del pigmento il quale si raccoglie in piccoli blocchi sparsi irregolarmente, quindi cessa anche il movimento dei flagelli, scompare il limite tra la zona chiara periferica e la parte centrale pigmentata e tutta la sostanza del corpo si fa splendente. Probabilmente questo è uno stato cadaverico del corpo flagellato.

Ho trovato un rapporto costante tra la comparsa dei flagellati e l'accesso febbrile. In 8 volte ebbe luogo all'inizio del-

(1) « Sul ciclo evolutivo dei parassiti malarici nella febbre terzana », *Archivio per le Scienze Mediche*, vol. XIII, pag. 188.

l'accesso, in due segnò non l'inizio di un vero accesso ma di un rialzo di temperatura di  $6/10$  di grado; in tutti i casi la loro apparizione coincide con la maturazione di una generazione di parassiti. Tanto nella terzana quanto nella varietà semilunare perciò le forme flagellate entrano nella fase dei parassiti maturi o prossimi a maturazione.

Ho accennato più su alla concomitanza delle forme semilunari colle forme della quartana e terzana da me osservata in 3 casi. Quantunque mi proponga di ritornare in altro lavoro su questo argomento, voglio fin d'ora richiamare su questa combinazione l'attenzione di coloro i quali hanno l'opportunità di fare esperimenti di inoculazione di germi malarici sull'uomo. Inoculando il sangue di un ammalato che abbia una forma di febbre data dai parassiti della quartana accompagnati da forme semilunari, non è improbabile che nell'individuo inoculato si sviluppi un tipo di febbre dovuto unicamente alle semilune, e si creda di aver così trovato un argomento contro l'esistenza di più varietà di parassiti malarici, se per avventura non si riconobbe nel sangue del primo ammalato la presenza delle forme semilunari.

Le forme dei cicli evolutivi della varietà parassitaria delle semilune si possono distinguere anche per note morfologiche in qualunque stadio della loro vita da quelle delle altre due varietà della quartana e terzana, tranne in qualche stadio intermedio della fase ameboide in cui la distinzione riesce quasi impossibile.

Nell'inizio della fase ameboide si distinguono per la loro piccolezza e poca mobilità e alla fine di questa fase per la scarsità del pigmento. In seguito la distinzione è anche più facile sia nel 1° che nel 2° ciclo. Il pigmento scarso, immobile, raccolto in un punto centrale od eccentrico del parassita, l'immobilità del parassita stesso nel 1° ciclo bastano a distinguerlo dalle altre due varietà. Le forme di segmentazione del 1° ciclo sono pure ordinariamente più piccole delle corrispondenti della quartana e terzana.

Nel 2° ciclo, dopo la fase ameboide, le differenze sono così spiccate che non è più possibile una confusione. Basta confrontare le figure dei lavori di Golgi con queste della mia tavola per persuadersene.

Sotto il punto di vista eziologico tra le febbri malariche si possono adunque distinguere:

1° le febbri date unicamente dai parassiti della quartana (quartane semplici, quartane duplicate, quartane triplicate o quotidiane);

2° le febbri date dai parassiti della terzana (terzane semplici, terzane duplicate o quotidiane);

3° febbri prodotte dalla varietà parassitaria delle semilune (febbri per lo più irregolari: quotidiane, subcontinue, subentranti, alcune perniciose, febbri a lungo intervallo);

4° febbri quotidiane o irregolari dovute a combinazioni delle due prime varietà soltanto (più frequenti) o a combinazioni di esse colla varietà delle semilune (molto più rare).

Prima di finire voglio anche ricordare che trovandomi nei primi giorni di settembre di passaggio in Catania, potei in compagnia del Dott. Pietro Galvagno esaminare il sangue di 4 ammalati di quotidiana malarica nella Clinica medica del Prof. Tommaselli. In tre di essi trovai le forme parassitarie della terzana e quartana, in uno le forme della varietà semilunare. Noto questo fatto poichè finora in Sicilia, per quanto io sappia, non si sono studiati i parassiti della malaria ed esso può servire a confermare che le tre varietà parassitarie si trovano da per tutto dove vi è malaria.

Io non potrei chiudere queste pagine senza rivolgere un caldo ringraziamento al signor Tenente-Colonnello Medico Ricciardi, Direttore dell'Ospedale militare di Roma ed agli altri colleghi militari che furono così gentili con me, segnatamente ai carissimi amici capitani medici Claudio Sforza, e Luigi Caporaso, i quali mi furono compagni di lavoro in queste ricerche seguendo passo passo e controllando le mie osservazioni (1).

(1) Durante il mese di Novembre u. s. il Dott. Camillo Terni ha proseguito nell'Ospedale Militare, dietro mia preghiera, le ricerche da me interrotte, sul sangue dei malarici, allo scopo di constatare la relativa frequenza dei casi dati dalla varietà delle semilune e dei casi dati dalle altre due varietà. Sono lieto di poter fin d'ora comunicare i risultati delle sue osservazioni. Gli ammalati esaminati (presi a caso tra quelli che

si presentavano all'Ospedale e quasi tutti affetti da febbri recidive e ostinate) furono 65. 3 di questi presentarono le sole forme della quartana e terzana, 3 le forme della terzana o quartana con qualche rara semiluna libera e 59 non presentarono nel sangue che le forme della varietà semilunare. Tra questi 59 ammalati in 55 osservò lo stadio dei corpi falciiformi o semilune, in 4 solamente trovò mancanti le forme del 2° ciclo. Tra i 55 casi che presentavano le forme del 2° ciclo, in 23 si trovarono dei corpi flagellati. Così tra le mie osservazioni e quelle del Dott. Terni sopra 128 ammalati vi sono 99 casi di febbri date unicamente dalla varietà parassitaria delle semilune, in 81 dei quali si potè constatare la presenza dei corpi falciiformi, ed in 32 la presenza dei corpi flagellati. — Sommando questi casi con quelli dati dalle altre varietà parassitarie si ha: — ammalati esaminati n. 128, dei quali in 87 si trovarono i corpi falciiformi e in 37 i corpi flagellati.

Nel N. 274 (25 novembre 1889) della *Riforma Medica* i signori dottori Gualdi e Antolisei pubblicano un caso di inoculazione nell'uomo di sangue malarico contenente le semilune di Laveran, colla quale ottennero la riproduzione di questa varietà parassitaria nel sangue dell'individuo inoculato. Io non potevo desiderare una più pronta conferma sperimentale delle osservazioni che avevo comunicato un mese e mezzo prima sullo sviluppo di questi parassiti.

*Spiegazione della Tavola.*

A

Fasi di sviluppo della varietà parassitaria delle semilune di Laveran nel 1° ciclo o ciclo rapido (per lo più nei casi acuti).

- FIG. 1. — Globulo sanguigno rosso normale con parassita non pigmentato libero nel plasma. (Il parassita fu disegnato relativamente troppo grande).
- FIG. 2-3-4-5-6. — Il parassita va ingrossando e riducendo lentamente la emoglobina in melanina, presenta distinti allo stato di riposo l'entoplasma e l'ectoplasma.
- FIG. 7-8-9-10. — Continuando l'ingrandimento del parassita ed aumentando la formazione del pigmento, questo si raccoglie in un punto di esso ed il globulo sanguigno va rapidamente decolorandosi fino a scoloramento completo.
- FIG. 11-12. — Segmentazione del parassita: nella fig. 11 la segmentazione si vede appena accennata alla periferia; la 12 rappresenta un parassita in segmentazione, attorno al quale non si vede più l'avanzo del globulo; i corpicciuoli figli sono ben distinti.

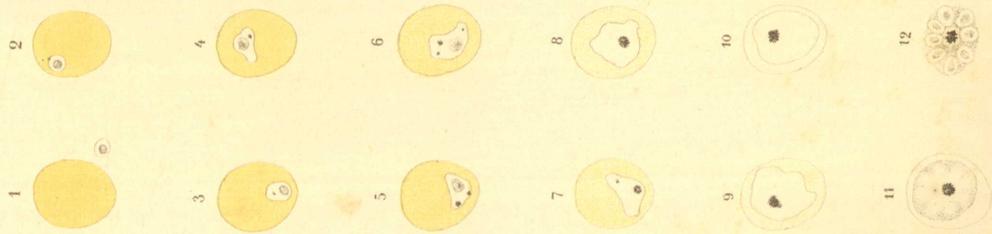
B

Fasi di sviluppo della stessa varietà parassitaria nel 2° ciclo (per lo più dopo parecchi accessi febbrili).

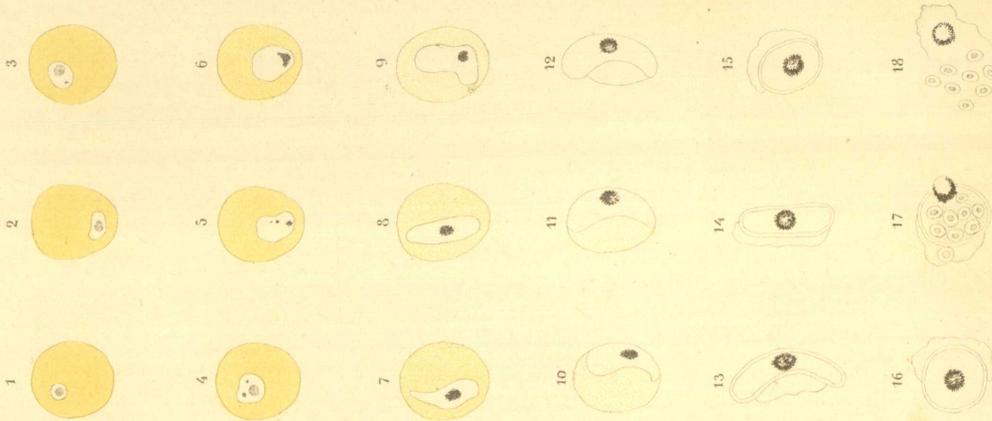
- FIG. 1-2-3-4. — Il parassita ameboide, prima non pigmentato, va ingrandendo e caricandosi di pigmento come nel primo ciclo.
- FIG. 5-6. — Non si distingue più l'entoplasma dall'ectoplasma, il pigmento si va raccogliendo in un punto del parassita.
- FIG. 7-8. — Il parassita si allunga, il pigmento si trova raccolto nella parte centrale.
- FIG. 9-10-11. — Il parassita si va incurvando ed ingrossando — il globulo mano mano si decolora.
- FIG. 12. — Il globulo è ridotto ad un avanzo segnato da una linea curva nella concavità della semiluna.
- FIG. 13-14-15-16. — Evoluzione successiva della semiluna per passare alla forma di corpo rotondo.
- FIG. 17. — Corpo rotondo in segmentazione o sporulazione. Il pigmento è raccolto nella metà interna di un corpicciuolo che sta sul margine del corpo in scissione.
- FIG. 18. — Corpiccioli liberi e provenienti dalla scissione.

- FIG. 1-2-3. — Diverse forme di sporulazione dei corpi rotondi provenienti dalle semilune, non si vede in esse l'avanzo del globulo rosso.
- FIG. 4-5. — Diverse forme di semilune libero. Nella fig. 5 si vede che il pigmento è contenuto in un corpo che si differenzia dal resto del parassita.
- FIG. 6-7. — Corpi rotondi collo stroma del globulo ben conservato. — Nel n. 6 è conservata anche in parte la colorazione gialla del globulo.
- FIG. 8. — Forma di corpo rotondo libero proveniente da semiluna.
- FIG. 9-10. — Semilune sviluppatasi colla convessità rivolta al centro del globulo.
- FIG. 11-12. — Corpi semilunari in degenerazione. — La sostanza del corpo nel n. 11 è ridotta in corpiccioli che si fondono durante l'osservazione microscopica, sicchè il parassita prende l'aspetto della fig. 12.
- FIG. 13. — Corpo allungato libero proveniente dalle semilune.
- FIG. 14. — Corpo flagellato proveniente dalle semilune. — Un'estremità di un flagello è molto grossa — un'altra contiene granuli di pigmento.
- FIG. 15. — Corpo flagellato proveniente dai parassiti della terza.
- FIG. 16. — Forma di segmentazione a ventaglio in un caso di quartana.
- FIG. 17. — Corpo non pigmentato nucleato, allungato a spola contenuto dentro un globulo rosso, che si trova qualche volta insieme alle forme ameboidi non pigmentate delle semilune.
- FIG. 18-19. — Parassiti non pigmentati coll'entoplasma in 18 a forma di occhiali — in 19 ridotto in tre globetti.
- FIG. 20-21-23. — Diverse forme di leucociti melaniferi.
- FIG. 22. — Leucocita contenente una massa di corpiccioli di varia grandezza, per lo più rotondi e risplendenti i quali ne mascherano il nucleo e probabilmente non sono altro che gli avanzi dei parassiti distrutti.

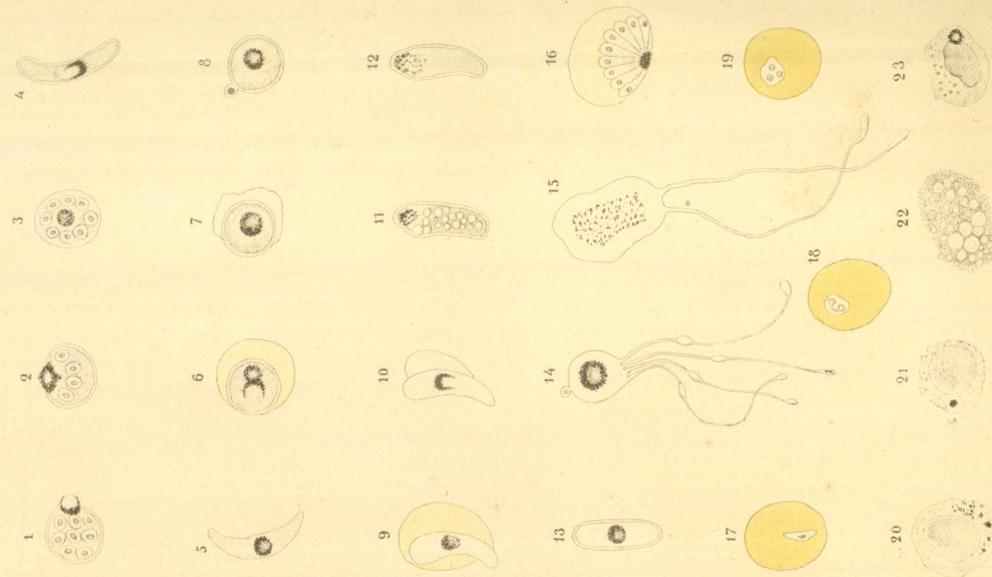
A



B



C







Estratto dall'*Archivio per le Scienze Mediche*, Vol. XIV.