

Sc. Prof. Luigi Galassi



21. 51. 9

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

Anno CCLXXVI (1878-79)

STUDI
SULLA NATURA DELLA MALARIA.

MEMORIA

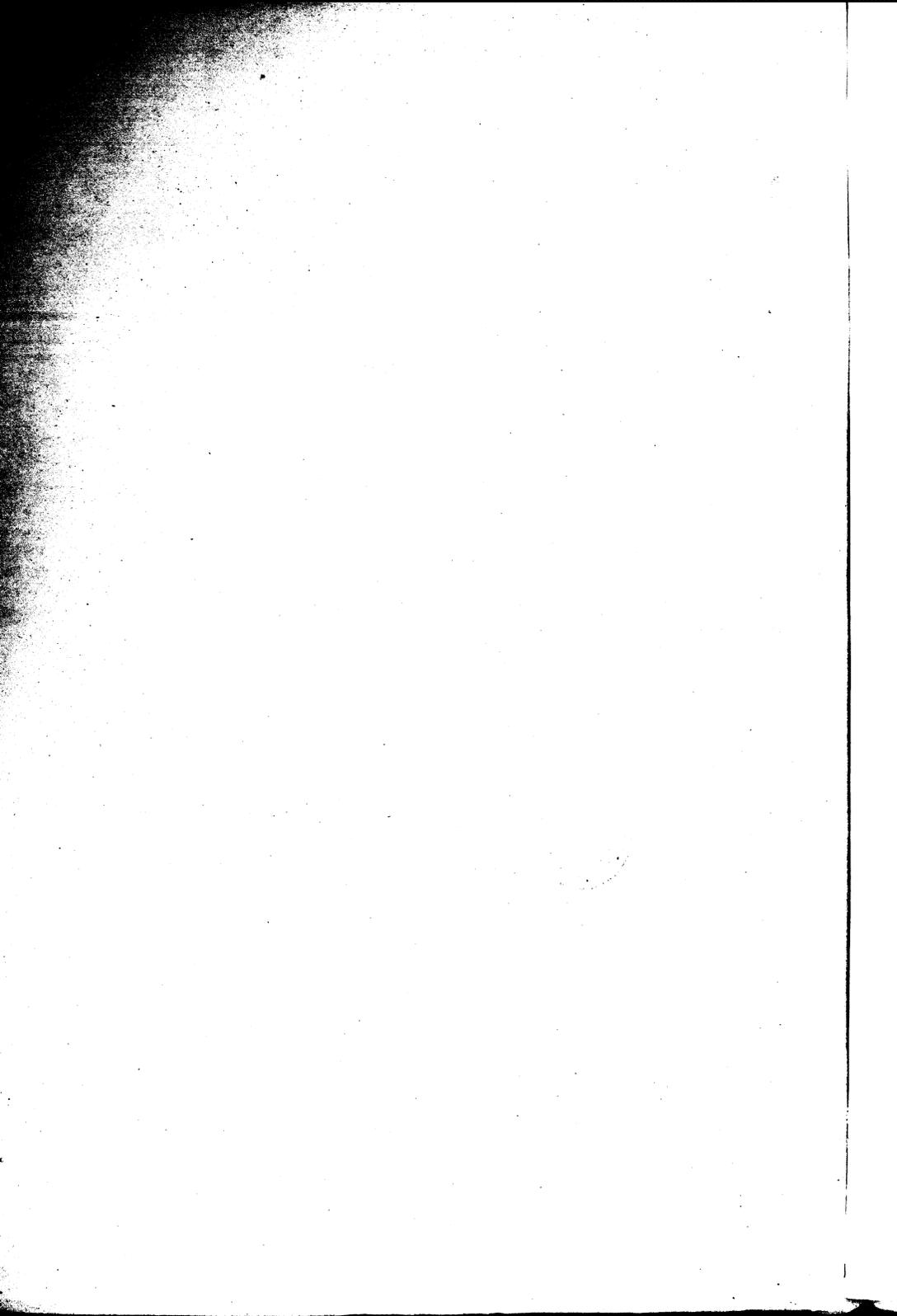
DEI PROFESSORI

EDWIN KLEBS E CORRADO TOMMASI-CRUDELI



ROMA
COI TIPI DEL SALVIUCCI

1879



REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

Anno CCLXXVI (1878-79)

STUDI
SULLA NATURA DELLA MALARIA.

MEMORIA

DEI PROFESSORI

EDWIN KLEBS E G. TOMMASI-CRUDELI



ROMA
COLTIPI DEL SALVIUCCI

1879

SERIE 3.^a — *Memorie della Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.*

VOL. IV.^o — *Seduta del 1 giugno 1879.*

CAPITOLO I.

Produzione della malaria.

Esposizione delle ricerche istituite in passato
per determinarne la natura.

L'endemia malarica ha nella storia naturale e civile dell'umanità, una importanza superiore a quella di tutte le altre malattie endemiche alle quali va soggetta la specie umana. Queste si osservano sempre in regioni del globo più o meno limitate, mentre non ci è possibile ancora di precisare i limiti geografici della produzione della malaria. Questa produzione raggiunge il suo più alto grado nelle regioni tropicali, ma può esser molto cospicua anche nelle zone temperate, e verificarsi anche in climi assai freddi. Nell'Emisfero Boreale per es. la malaria si può produrre in tutte le latitudini comprese fra l'Equatore ed il 60° grado nord, ed alcuni fatti studiati in Isvezia da Bergmann, tenderebbero a dimostrare come essa possa svilupparsi in regioni che finora ne erano immuni, in circostanze tali da far supporre una importazione. Quindi è che, nello stato presente delle nostre cognizioni, non si può stabilire con certezza quali parti della superficie terrestre compresa fra i due circoli polari, debbano essere considerate come assolutamente preservate dalla malaria.

La produzione della malaria, nelle località atte a generarla, aumenta in ragione inversa della latitudine geografica, ed in ugual ragione aumenta la gravità delle malattie che essa cagiona. Nelle regioni temperate, e più ancora nelle tropicali, essa può giungere a rendere inabitabili le località infette. Nessun'altra malattia endemica od epidemica minaccia o distrugge l'abitabilità di una regione come la endemia malarica. La malaria costituisce il principale ostacolo alla esplorazione ed alla colonizzazione del continente africano; minaccia di ridurre a deserti vaste regioni degli Stati del Sud nella Unione americana, che erano floridissime sinché venne impiegata a coltivarle la razza negra, la quale resiste meglio di ogni altra razza umana alla sua azione; ha desolate in Europa intere provincie che in antico erano popolate e fiorenti. Anche dove la intensità della sua azione non è tale da produrre una grande mortalità annua, l'endemia malarica induce una decadenza

progressiva delle razze umane, che nessun'altra endemia è capace di produrre in ugual grado.

La preservazione delle società umane da effetti malefici così gravi è quindi un interesse economico-sociale di prim'ordine, dove la malaria esiste. Gli uomini di Stato di tutti i paesi civili afflitti da questa endemia si sono in ogni tempo adoperati a rimuoverla, o a limitarla; e perfino nella storia della semi-civiltà Peruviana si trova ricordo di sistemazioni delle acque, imposte e sorvegliate dalla provvida amministrazione degli Incas nelle basse terre che costeggiano il Pacifico, onde aumentarne la fecondità e la salubrità. Nell'antichità, l'amministrazione romana si distinse sopra ogni altra per la vastità e grandiosità delle opere intraprese nell'intento di vincere questo nemico pubblico, e tali opere furono spesso segnalate come uno dei principali titoli dei governanti alla riconoscenza dei cittadini. Anche nei tempi moderni, una delle amministrazioni più riputate per saviezza ed intendimenti civili, quella degli ultimi due Granduchi di Toscana, trasse il suo maggior titolo di gloria dalle bonifiche compiute, od iniziate, onde rendere salubri vaste regioni desolate dalla malaria. L'Italia, dove la malaria ha ridotte inabitabili, o quasi, vaste estensioni di paese (specialmente nel versante occidentale degli Appennini, in Sardegna ed in Sicilia) è spinta dopo il 1870 a sciogliere radicalmente il problema della soppressione della endemia malarica, anche da un grande interesse politico. La sua nuova capitale è posta nel centro di una delle regioni più insalubri delle zone temperate, ed il suolo stesso sul quale la città è costruita può farsi generatore di malaria nella stagione calda. La malsania di Roma durante questa stagione, è divenuta molto minore in alcuni quartieri della città in seguito ai grandi lavori di fognatura, di viabilità, e di edificazione eseguiti negli ultimi nove anni, ma esercita tuttavia una influenza dannosa sullo svolgimento progressivo della città e sulla vita pubblica che vi è concentrata. Queste condizioni della capitale italiana, hanno influito a moltiplicare in questi ultimi tempi gli studi diretti a ricercare i vari modi di produzione dei focolai di infezione malarica, ed i mezzi più acconci a limitarli od estinguerli.

Tutte le conoscenze che abbiamo sulle malattie cagionate dalla malaria, provano che le vere cagioni di esse debbono essere rintracciate nel suolo di quelle località nelle quali questi processi morbosi si manifestano in gran numero, e che la sostanza venefica prodottasi nel suolo, può essere sollevata ad altezze diverse nell'atmosfera per mezzo di correnti ascendenti di aria.

Nei terreni paludosi la produzione della malaria è nulla o scarsissima, anche quando la temperatura è assai elevata, sinchè il fondo palustre è separato dall'atmosfera per mezzo di strati d'acqua assai cospicui. Essa cresce gradatamente nella stagione asciutta, a misura che la evaporazione assottiglia questi strati d'acqua, e raggiunge il suo massimo quando una gran parte del fondo palustre è messa allo scoperto, od è separata dall'atmosfera soltanto per mezzo di veli d'acqua di pochissima profondità. Si solleva allora dal suolo una gran quantità di veleno malarico, che da molti viene designato, anche oggigiorno, col nome di *miasma palustre*. La qualifica di *palustre* data a questo veleno o miasma, ed alla febbre prodotta dalla sua azione, deve però essere abbandonata, poichè la malaria non si sviluppa in tutti i

luoghi paludosi, mentre può essere generata abbondantemente in terreni che mai furono palustri.

Qualemo ha voluto supporre che questa produzione della malaria nei *terreni non palustri* sia dovuta ad una costituzione geologica e chimica speciale di essi. Questa opinione venne principalmente sostenuta da Heyne e da Kirke, ma non è accettabile. La malaria si può produrre in terreni di composizione molto diversa, mentre terreni di uguale composizione e posti in uguali condizioni fisiche, talvolta si mostrano atti alla generazione di essa, e tal'altra no. Ciò prova che lo sviluppo della malaria non è legato ad una particolare composizione chimica del suolo, ma non basta ad escludere che, a parità di tutte le altre condizioni, questo sviluppo possa essere influenzato, in più od in meno, da alcune qualità chimiche del terreno. Non è improbabile, benchè non sia ancora provato, che le modificazioni indotte nella composizione chimica del terreno da culture razionali possano, in alcuni casi, diminuire la sua attitudine alla produzione della malaria. Inoltre gli esperimenti fatti da Lanzi e Terrigi nel 1873 (1) e ripetuti da essi su vasta scala negli anni successivii durante i lavori eseguiti nel Colosseo (2), rendono molto probabile che la calce ed i sali solubili di calcio aggiunti ad alcuni terreni malarici, diminuiscano od anche sospendano la produzione della malaria nei medesimi. Sarebbe desiderabile che simili ricerche venissero intraprese in tutte le varie specie dei terreni malarici, poichè per mezzo di esse si potrebbe forse giungere a perfezionare i lavori di bonifica, ed a renderli di effetto più sicuro.

Gli studi degli igienisti sono stati fin qui rivolti di preferenza alle condizioni fisiche, che favoriscono la produzione della malaria in questi terreni non palustri. Tutti questi terreni contengono una notevole quantità d'acqua nella stagione delle piogge, sia per effetto della loro bassa giacitura, sia per effetto della poca permeabilità del sottosuolo che gli sostiene. Durante la stagione calda la produzione della malaria può effettuarsi negli strati superficiali del suolo, quando questi strati rimangono abbastanza umidi, come avviene per es. nei terreni malarici ricoperti da boschi. Se invece il terreno è scoperto, la evaporazione estiva può arrivare a disseccare interamente gli strati superficiali, ma ordinariamente non giunge fino ad esaurire le acque contenute negli strati inferiori, i quali possono conservare una ragguardevole umidità fino al ritorno della stagione delle piogge. La produzione della malaria non può più effettuarsi allora negli strati superficiali rimasti asciutti, ma ha luogo negli strati umidi sottostanti, ogni qualvolta l'aria atmosferica può penetrare sino ad essi a traverso le screpolature o le porosità degli strati superficiali, ovvero quando si praticano degli sterri che li mettono allo scoperto.

Nelle basse terre, questi focolai sotterranei di produzione malarica sono formati talvolta da antichi fondi palustri ricoperti da colmate naturali od artificiali, quali per es. la *cuora* palustre di molte località del litorale e della Maremma toscana, ed il sottosuolo di gran parte della Val di Chiana. Questi fondi palustri sotterrati sono innocui, anche quando rimangono umidi nella stagione calda, se il

1) Atti dell' XI congresso degli scienziati italiani. Roma. 1873.

2) Atti dell'Accademia di Medicina di Roma. Seduta del mese di aprile 1879.

terreno di colmata che li ricuopre è profondo ed abbastanza compatto. Generano invece la malaria, quando essi sono separati dall'atmosfera soltanto per mezzo di strati sottili di un terreno disgregato (*), ovvero quando l'aria può accedervi in seguito a scavi, o a traverso le screpolature prodottesi nel terreno soprastante.

Spesso però i focolai sotterranei di infezione malarica non hanno origine palustre, sono poverissimi di *detritus* organici, e possono trovarsi ad altezze ragguardevoli sulle colline e sui monti. La conservazione dell'umidità negli strati inferiori di questa sorta di terreni, è dovuta per lo più alla scarsa permeabilità del sottosuolo che gli sostiene, ed alle irregolari inclinazioni della sua superficie le quali impediscono lo scolo delle acque da esso tenute in collo. Esempi numerosi di terreni di tal fatta si riscontrano in molte parti d'Italia, specialmente nell'Agro romano, e nella città di Roma, dove riuscirebbe facile precisare la sede dei principali focolai d'infezione, qualora fosse condotto a termine il bel lavoro iniziato dall'ingegnere Vescovali, col tracciamento del profilo della zona acquifera che si estende dal Gianicolo alla Porta s. Lorenzo, passando per il Pantheon. Anche in questi terreni lo sviluppo della malaria non ha luogo, se l'accesso dell'aria atmosferica fino agli strati che conservano l'umidità nella stagione calda, non è assicurata dalla permeabilità o dalle soluzioni di continuo degli strati sovrastanti, ovvero non è procurato accidentalmente dagli sterri.

È stato supposto più volte che, oltre a queste fonti di produzione della malaria costituite dai terreni di luoghi paludosi e di luoghi non paludosi, ne esistessero altre, affatto indipendenti dalla natura e dalle condizioni del suolo. Fra le ipotesi che sono state enunciate in proposito, alcune sono passate nella tradizione popolare di vari paesi, ed hanno acquistato agli occhi di molti la importanza di dottrine stabilite. Una delle più divulgate è quella che attribuisce alle foreste la proprietà di generare malaria, mediante la putrefazione delle foglie e dei rami morti che ne ricuoprono il suolo. Questa ipotesi è stata suggerita dalla esistenza di molte foreste in Europa, in Africa, nelle Indie orientali, in America ed in Australia, nelle quali la produzione della malaria raggiunge talvolta proporzioni grandissime; e dal fatto che il disboscamento di molte regioni malariche in Inghilterra, nell'America del Nord e nell'India orientale, ha spesso servito a sanificarle, ed a renderne abitabili alcune che prima erano assolutamente inabitabili. Anche nelle Paludi Pontine si è potuto verificare un fatto analogo, dopo il taglio che la casa Caetani fece venti anni or sono della gran selva che circondava il paese di Cisterna dal lato meridionale. Questa selva era appunto quella della quale Lancisi impedì il taglio nel 1714, persuaso come egli era che i boschi incedui migliorassero l'aria dei luoghi palustri, ed in questo caso avessero anche il vantaggio di tutelare Cisterna dai venti meridionali, che egli credeva apportatori di malaria. Invece la distruzione di questa grande selva ha procurato a Cisterna un aumento notevole di salubrità e di popolazione (**).

(*) Linoli dott. Giuseppe, *Sulle cause che rendono endemiche le febbri miasmatiche nel Comune di Castiglione Fiorentino*. Memoria letta al Comitato medico di Arezzo il 10 luglio 1877.

(**) Giovanni Maria Lancisi, *Due discorsi inediti sul taglio delle selve di Cisterna e Sermoneta*, pronunciati il 23 agosto e il 27 settembre 1714. Pubblicati per cura del prof. Francesco Scelzi, Roma, 1877.

Sermoneta, a differenza di Cisterna, si trova adesso in condizioni peggiori di quelle nelle quali

Non c'ha dubbio adunque sulla esistenza dei fatti sui quali si fonda l'ipotesi suaccennata, ma la interpretazione che se ne è data è fallace. Ed invero non è possibile ammettere che la decomposizione dei *debris* vegetabili accumulati nelle foreste, valga da sola a produrre malaria, quando vediamo in tutte le parti del globo esistere vaste foreste, poste nelle medesime condizioni climatologiche di quelle nelle quali la produzione della malaria avviene, e che pur sono salubri, sebbene talvolta la massa di *debris* vegetabili che vi si sono accumulati e vi putrefanno sia enorme, come per es. in alcune foreste vergini dell'America del Sud.

È certo però, che quando i boschi ricuoprono terreni produttori di malaria, essi possono favorire questa produzione, specialmente se tali terreni sono situati in giaciture che rendono difficile lo scolo delle acque in essi contenute. Il bosco, intercettando i raggi solari, impedisce un'attiva evaporazione del suolo, e permette che il terreno malarico conservi molta umidità durante la stagione calda, *anche negli strati più esposti all'azione dell'aria atmosferica*. Se quest'ostacolo all'azione diretta dei raggi solari viene rimosso, il prosciugamento estivo del terreno che ne risulta diminuisce notevolmente la produzione della malaria, ed in terreni non molto profondi può giungere ad arrestarla. Si concepisce quindi come il disboscamento possa migliorare spesso, anche da solo, le condizioni di salubrità di tali luoghi; e si intende altresì come, nei terreni profondi, esso non valga ad arrestare interamente la produzione della malaria, senza l'aiuto di fognature e di altre opere idrauliche, le quali esauriscano le acque di quegli strati che l'azione dei raggi solari non arriva a prosciugare.

È opinione di molti che la malaria possa esser generata dalla putrefazione degli organismi inferiori, vegetabili ed animali, che muoiono in gran numero quando le acque salse del mare si mescolano con acque dolci raccoltesi in prossimità di esso. Questa opinione è fondata sulla coincidenza osservata in alcune parti delle coste italiane, dove dei laghi di acqua dolce sono separati dal mare per mezzo di dune, della penetrazione delle acque del mare entro questi serbatoi, colla invasione delle febbri intermittenti. Questa coincidenza però è stata riscontrata soltanto in località nelle quali i terreni circostanti alle raccolte d'acqua dolce sono produttori di malaria; ovvero lo furono in passato, e si mostrano sempre capaci di ridivenir tali, ogni qualvolta le antiche *cuore* palustri che essi contengono sono poste, durante l'estate, in condizioni favorevoli di umidità e di azione dell'aria atmosferica. Oltre a ciò, quella coincidenza non è stata notata se non nelle stagioni nelle quali questi terreni, o abitualmente od occasionalmente, producono malaria in abbondanza. Nelle altre stagioni dell'anno, la mescolanza delle acque dolci colle salse può avvenire in condizioni tali da determinare la morte e la putrefazione di una quantità grandissima di organismi vegetabili ed animali, intorbidare ed anco rendere fetide le acque di questi laghi litoranei (come per es. nei laghi di Burano, di Fogliano, dei Monaci, di

era nel secolo scorso. Ciò non è dovuto ai disboscamenti eseguiti nel piano sottostante al colle, in cima al quale siede Serroneta, ma ad una vasta palude che si è formata ai piedi del colle dopo la bonifica di Pio VI, che in questa parte delle Pontine fu imperfettissima. Gli alluvi malarici della nuova palude si sollevano fino all'altezza di Serroneta, ed han reso affatto inabitabili le case che guardano da quel lato.

Caprolace) senza che si manifestino febbri di malaria, nemmeno in persone le quali si trattengono intere giornate su questi laghi a pescare, o a cacciare le folaghe. Se poi il terreno circostante ai laghi non è atto a produrre malaria, la mescolanza delle acque dolci colle saline può avvenire nella stessa forma, e prendere vastissime proporzioni, senza che la malaria si manifesti in alcuna stagione dell'anno: come si vede in alcuni grandi laghi littoranei del mar Baltico (per es. Frisches Haff, e Curisches Haff) che non generano malaria, mentre la malaria si produce in località che son poste esattamente nelle medesime condizioni di latitudine e di clima (per es. Jahdebusen e Wilhelmshafen), le quali però, a differenza delle prime, sono circondate da terreni malarici. Quindi, se non abbiamo argomenti per escludere che gli effetti di quella miscela possano aggravare le condizioni delle località insalubri, ne abbiamo abbastanza per escludere che essa possa per se sola generare la malaria, e produrre endemie malariche in località salubri.

Lo stesso è a dire della opinione che attribuisce alla macerazione della canapa e del lino, la facoltà di svolgere effluvi malarici. Tali macerazioni riescono spesso dannose per gli effluvi putridi che emanano, e per l'inquinamento delle acque potabili che possono produrre, ma non generano la malaria. Ciò è dimostrato dal numero grandissimo di macerazioni di canapa e di lino, che si fanno in paesi non afflitti dalla malaria, senza che vi si manifestino febbri intermittenti. Non è da escludere però, che quando tali macerazioni han luogo in terreni produttori di malaria, esse possano influire a peggiorare le condizioni di questi terreni; poichè, se non altro, gli scavi eseguiti per preparare i maceratoi, e la introduzione dell'acqua nei medesimi, possono aumentare la produzione della malaria dove già esisteva, o risuscitarla nei terreni già bonificati.

Certamente ogni ragione di prudenza consiglia di rimuovere tutte queste cause concomitanti di malsania, onde non lasciar nulla di intentato per meglio assicurare le bonifiche. Ma lo scopo essenziale della bonifica, è quello di *modificare le vere sedi della produzione, cioè i terreni malarici, in guisa tale da toglier loro la possibilità di offrire un campo favorevole allo sviluppo della malaria.*

L'esperienza ha dimostrato che questo sviluppo non può aver luogo senza la combinazione di tre fattori:

- 1° una temperatura assai elevata;
- 2° una persistente umidità del suolo;
- 3° l'accesso dell'aria fino agli strati umidi del suolo.

Quando uno di questi tre fattori viene eliminato, lo sviluppo della malaria non si verifica. Anche nei terreni malarici abbandonati a se stessi, avviene talvolta che quando la temperatura media dell'estate è molto elevata e per molto tempo non cadono piogge, la produzione della malaria si arresta, perchè l'evaporazione del suolo arriva ad esaurire tutta l'umidità che esso conteneva. In tal caso una pioggia che sopravvenga può bastare a determinare in poche ore lo scoppio della endemia malarica, che fino alla venuta della pioggia non si era manifestata. Così pure, se la temperatura media dell'estate è eccezionalmente molto bassa, può avvenire che la produzione della malaria venga sospesa, o rimanga entro ristretti limiti; ma essa

riprende tutto il suo vigore, anche in brevissimo spazio di tempo, quando la temperatura dell'atmosfera si alza (1).

L'oggetto principale dei lavori di bonifica compiuti o tentati fino al presente, è stato quello di ottenere in modo permanente la remozione di uno di questi fattori, mediante il prosciugamento dei terreni malarici. Le opere idrauliche dirette a procurare una sistemazione delle acque capace di condurre a questo risultato, hanno variato a seconda della qualità e della giacitura di tali terreni. Nelle basse terre, onde impedire i ristagni delle acque nel soprassuolo e nel sottosuolo, si è per lo più adoperato un sistema di canali aperti, studiandosi di assicurare per mezzo di essi, in ogni stagione dell'anno, lo scolo delle acque. Questo sistema, evidentemente insufficiente quando i terreni da bonificare hanno un livello presso a poco uguale, od inferiore, a quello del mare o dei collettori naturali della regione, è stato combinato coll'uso delle macchine idrovore; ovvero unito al sistema delle colmate, dovunque era possibile introdurre nei luoghi da bonificare dei corsi d'acqua ricchi di terre di trasporto. Il rialzamento di livello procurato dalle colmate ha il doppio effetto di facilitare lo scolo delle acque, e di sotterrare quelle parti del suolo che prima della bonifica producevano la malaria. Cosicchè, quando la colmata è perfettamente riuscita, vengono eliminati contemporaneamente due fattori dello sviluppo della malaria; cioè l'umidità del terreno, e l'accesso dell'aria a quelle parti di esso nelle quali lo sviluppo della malaria aveva luogo.

Per la bonifica dei terreni malarici posti in giaciture più elevate, sono stati adoperati, a seconda delle varie condizioni che presentano, i canali aperti, i grandi collettori a botte, le fognature superficiali per mezzo di canali coperti o di tubi di argilla, ed anco delle fognature praticate a profondità ragguardevoli nel sottosuolo. I più begli esempi di questa ultima maniera di bonifica ci sono offerti

(1) Quando soffiano venti meridionali, e specialmente lo scirocco, questo innalzamento della temperatura avviene talvolta in modo improvviso, e l'aumento quasi immediato dello sviluppo della malaria che allora si verifica in alcuni paesi dell'Italia occidentale, ha creato il pregiudizio che lo scirocco vi porti la malaria dall'Africa. Anche Lancisi attribuiva ai venti meridionali una speciale azione malfica, e credeva di proteggere le città ed i paesi della provincia di Roma, opponendo a tali venti un antemurale formato da boschi. Egli riteneva che ciò costituisse un efficace riparo, e che i boschi trattenessero o filtrassero queste correnti d'aria meridionali prima del loro ingresso entro le terre, giacchè esse, a differenza delle settentrionali, radevano il suolo, secondo una strana teoria che aveva immaginata e formulata così: « i venti d'Austro e suoi collaterali sono di una natura tutto particolare, affatto contraria ai venti settentrionali; cioè a dire li venti meridionali nascono dal basso e radendo il piano della terra, quindi sempre si alzano verso i luoghi montani: « quando i boreali scendono dall'alto e premono il soggetto terreno. Osservazione per verità ignorata e dal volgo e trascurata ancora da qualcuno dei nostri scrittori ». Lancisi, *Due discorsi inediti sul taglio delle selve* ecc. pag. 6. Invece le cose stanno precisamente a rovescio. Queste correnti meridionali d'aria calda e rarefatta, invadono gli strati superiori dell'atmosfera molto prima degli inferiori, ed infatti la gente del mezzogiorno d'Italia può predire la venuta dello scirocco molte ore prima che incominci a farsi sentire, perchè vede stendersi un velamento opaco nelle alte regioni dell'atmosfera durante il giorno, od osserva nella notte una forte scintillazione delle stelle. Cosicchè, anche se fosse provato che tali venti portano seco degli effluvi malarici, e che i boschi sono capaci di liberare da questi effluvi l'aria che passa a traverso ad essi, la purificazione dei venti meridionali non potrebbe essere ottenuta, nemmeno per mezzo di boschi formati dalle gigantesche Washingtonie di California.

dalle estese escavazioni cunicolari che si incontrano nelle colline di Roma e dell'Agro romano (*), dove questo sistema, secondo Lanciani, raggiunse il suo massimo sviluppo durante il periodo imperiale.

Questi diversi metodi di bonifica hanno spesso procurata la limitazione, e talvolta la cessazione dello sviluppo della malaria. È da notare però, che anche nei casi nei quali è possibile riuscire ad un risultato completo, non v'è alcuna sicurezza che questo risultato sia duraturo. La bonifica soppriime una o due delle condizioni esteriori indispensabili allo sviluppo della malaria, ma non distrugge quella attitudine particolare dei terreni malarici, che costituisce la differenza essenziale fra essi e quei terreni i quali, sebbene abbiano la medesima composizione e siano posti nelle stesse condizioni esteriori, s'incapaci a generare malaria. La causa alla quale si deve questa attitudine speciale del suolo è ridotta all'impotenza quando la bonifica è perfettamente riuscita, ma non è rimossa; e può ritornare in azione anche dopo un tempo assai lungo. Non sono rari gli esempi di terreni i quali da molti anni erano interamente bonificati, e nei quali lo sviluppo della malaria è ricominciato ed ha raggiunto talvolta porzioni ragguardevoli, quando si sono riprodotte le condizioni esteriori che erano state allontanate dalla bonifica. Basta, in alcuni casi, che la sistemazione delle acque sia alterata per effetto di trascurata manutenzione, o di inondazioni, o di sovrabbondanza di piogge; ovvero che gli antichi focolai d'infezione, sottratti al contatto dell'aria dalla bonifica, vengano posti accidentalmente in comunicazione coll'atmosfera, perchè una endemia malarica si manifesti in località che, da gran tempo ne erano immuni. In alcuni paesi di Toscana che da molti anni sono stati liberati dalla malaria per mezzo delle colmate, spesso gli operai di campagna sono assaliti da febbri intermittenti dei tipi più gravi, poco dopo aver posta allo scoperto, nello scavare dei fossi, l'antica *cuora* palustre. Dopo la conversione della gran proprietà demaniale di Val di Chiana in proprietà private, le opere idrauliche che avevano interamente soppressa la endemia malarica in gran parte della valle, sono state così trascurate da far ritornare umido il sottosuolo bonificato, e l'endemia malarica è ricomparsa in località nelle quali da molti anni non ve n'era più traccia (*). E ciò che è avvenuto nell'Agro romano dove, durante il regime imperiale, la bonifica era giunta a tal perfezione da permettere il soggiorno estivo in ville situate nei luoghi che adesso contano fra i più pestiferi delle zone temperate (*), dimostra come nemmeno una secolare sospensione della produzione della malaria, valga ad assicurare che la causa di essa sia rimossa dai terreni, e non possa ricominciare ad esercitare la sua azione malefica quando le condizioni esteriori favorevoli allo sviluppo della malaria si ripresentano.

(*) Secchi, *Intorno ad alcune opere idrauliche antiche rinvenute nella campagna di Roma*. Roma, 1876. — Di Tucci, *Dell'antico e presente stato della campagna di Roma in rapporto alla salubrità dell'aria ed alla fertilità del suolo*. Roma, 1878. — Tommasi-Crudeli, *Della distribuzione delle acque nel sottosuolo dell'Agro romano e della sua influenza nella produzione della malaria*. Atti della reale Accademia dei Lincei. Seduta del 6 aprile 1879. — Lanciani, *Di alcune opere di risanamento dell'Agro romano eseguite dagli antichi*. Atti della reale Accademia dei Lincei. Seduta del 1 giugno 1879.

(*) Linoli, Memoria citata.

(*) Lanciani, *Di alcune opere di risanamento dell'Agro romano eseguite dagli antichi*. Atti della reale Accademia dei Lincei. Seduta del 1 giugno 1879.

Questa pertinacia singolare dell'attitudine dei terreni a generare malaria, ha spinto gli igienisti a ricercare la natura dell'agente che li rende così infesti, nella speranza che una volta conosciuta la sua vera natura, si sarebbe più tardi potuto scoprire il modo di distruggerlo o di renderne impossibile lo sviluppo, ed ottenere così delle benefiche di effetto sicuro e durevole.

Le prime ricerche furono dirette a riconoscere se fra i corpi gassosi che si sollevano dai terreni malarici, ve ne fosse uno al quale si potesse attribuire la generazione della febbre. Queste ricerche condussero a risultati negativi. Anche l'idea che la causa specifica della infezione malarica sia un prodotto volatile della fermentazione putrida degli organismi vegetabili ed animali, che ha luogo in così vasta scala nei terreni palustri, non ha trovato appoggio nei fatti. Non si è mai potuto dimostrare che il limo palustre e l'aria delle paludi contengano una sostanza non organizzata, capace di svilupparsi, senza intervento di alcuna altra sostanza, la febbre di malaria. Inoltre la produzione della malaria manca talvolta nei terreni palustri, sebbene in essi la putrefazione degli organismi vegetabili ed animali proceda così attivamente come in quelli che generano malaria; mentre dall'altro lato la malaria può essere generata in terreni non paludosi, nei quali queste decomposizioni putride non avvengono.

Questa mancanza di esatta corrispondenza fra le qualità del suolo e la produzione della malaria, ha indotto alcuni igienisti a credere che le febbri malariche non siano dovute ad una causa specifica, ma siano invece la conseguenza degli abbassamenti improvvisi, o molto rapidi, della temperatura atmosferica, resi più nocivi dalla notevole umidità che generalmente si riscontra nei paesi di malaria. Tale opinione fu adottata anche da osservatori distinti come il Santarelli (*), e venne recentemente sostenuta dall'Oldham (†). Evidentemente qui si è confusa l'essenza della malattia con una causa occasionale che assai frequentemente, ma non sempre, interviene a determinarne lo sviluppo. Non v'ha dubbio che molte persone le quali, finchè si preservano con ogni cura dalle refrigerazioni cutanee, vivono impunemente in paesi di malaria, possono essere colte ad un tratto dalla febbre appena cessano dall'uso di tali precauzioni; e che questo effetto degli abbassamenti di temperatura può prodursi anche in persone che la qualche giorno hanno abbandonato i paesi malarici dove, mediante quelle precauzioni, avevano vissuto senza sentir danno. Questi fatti però si verificano anche in altre malattie endemiche ed epidemiche, per es. nel cholera, e si spiegano agevolmente nelle perturbazioni del circolo sanguigno che le refrigerazioni determinano in alcuni distretti vascolari, le quali permettono al fermento morbigeno che già si trova nel sangue o nei tessuti, di fissarsi più facilmente in alcune parti del corpo ed ivi spiegare la sua azione malefica. Nel resto, la febbre malarica può insorgere senza l'intervento di questa causa occasionale, come è facile persuadersene, soprattutto nelle

(*) Santarelli, *Ricerche intorno alla causa della febbre perniziosa dominante nello Stato Romano*. Osimo, 1898.

(†) Oldham, *What is malaria? And why is it most intense in hot climates?* Londra, H. K. Lewis. Calcutta, Wyman et C.^o 1871.

località nelle quali dominano i tipi più gravi di questa febbre. Nei paesi non malarici invece, questa causa occasionale non arriva mai a suscitare una febbre di malaria, nemmeno quando spiega una grande intensità d'azione.

Ma la stessa ragione per la quale alcuni igienisti sono stati indotti a respingere l'idea di una causa specifica della infezione malarica, cioè la incostanza dei rapporti fra la qualità del suolo e la produzione della malaria, ha suggerita ad altri l'idea che la malaria sia costituita da un organismo parassitario il quale, per svilupparsi, richieda non solo alcune condizioni esteriori favorevoli, ma anche la presenza di un germe atto a dargli nascimento. Varie ragioni militano in favore di questa ipotesi: fra le altre, alcune analogie che la febbre da malaria mostra con altre infezioni le quali sono di natura parassitaria, e le proporzioni che acquista la produzione della malaria ogni qualvolta i luoghi dove essa esiste sono lasciati in abbandono. Quando, in località siffatte, l'industria dell'uomo cessa dal rimuovere le condizioni esteriori favorevoli allo sviluppo della malaria, questo sviluppo prende tali proporzioni, che difficilmente si potrebbero concepire senza l'intervento di un organismo capace di moltiplicarsi all'infinito, quando nulla più osta alla sua evoluzione. Questo progressivo ed enorme aumento della malaria è storicamente provato, specialmente in Italia. Le Maremme toscana e romana, la Campagna romana, Pesto, Selinunte, ebbero la malaria anche in antico, ma poterono essere abitate, e lo furono da popolazioni numerose e prospere: adesso sono affatto inabitabili, o cominciano appena ed a stento a ridivenire abitabili (come per es. alcune parti della Maremma toscana), dopo che l'industria dell'uomo è stata di nuovo adoperata a rimuovere quelle condizioni dalle quali dipende lo sviluppo della malaria. La differenza tra ciò che fu e ciò che è attualmente in così gran parte d'Italia, è troppo grande, per spiegarla facilmente con un semplice aumento della produzione annua di effluvi malefici, dovuto soltanto alle mutate condizioni fisiche e chimiche del suolo. Una tal spiegazione non appaga abbastanza; mentre il concetto della presenza di un essere vivente il quale, non trovando alcun ostacolo al suo sviluppo, ha potuto estendere il suo campo d'azione per mezzo di un numero grandissimo di generazioni successive e progressivamente crescenti, sembra rispondere meglio alla imponenza del fenomeno.

Il modo stesso della distribuzione della malaria nell'atmosfera sovrastante ai terreni che la producono, fornisce alcuni argomenti in appoggio dell'ipotesi che essa sia dovuta all'azione di particelle solide. In tutti i paesi di malaria, le prime ore del mattino e soprattutto le prime ore della sera si considerano come le più pericolose per chi deve respirare l'aria di questa atmosfera. Oltre a ciò, l'esperienza ha dimostrato che la causa alla quale si deve l'insalubrità di quest'aria rimane spesso confinata negli strati dell'atmosfera più prossimi al suolo, e che a pochi metri dal suolo il pericolo cessa, o almeno diminuisce notevolmente. Infatti nelle Paludi Pontine, mentre l'addormentarsi all'aperto durante una notte d'estate, in posizione tale da respirare l'aria degli strati più prossimi al terreno, varrebbe lo stesso che condannarsi ad un attacco di perniciosità, si vede della gente dormire impunemente all'aperto su piattaforme sostenute da pali, che le sollevano di pochi metri al disopra della superficie del suolo. Anche nell'America del Sud, quando si ha da pernottare all'aperto in luoghi di malaria, v'è l'uso di preservarsi dormendo in amache sospese ai rami degli alberi.

Nell'ipotesi che la malaria sia costituita da particelle solide di piccolo peso specifico contenute nel terreno, la interpretazione di questi fatti non offre difficoltà. Si intende benissimo, come questi piccoli corpi possano essere sollevati fino ad una certa altezza negli strati inferiori dell'atmosfera, in quelle ore della giornata nelle quali la differenza fra la temperatura di questi strati e quella del suolo è tale da produrre delle correnti d'aria ascendenti; e come ciò non avvenga, od avvenga in molto minori proporzioni, in quelle ore nelle quali le due temperature sono presso a poco uguali. Se invece si ammette che la malaria sia un corpo gassoso, il quale si sviluppa in seguito a processi chimici che han luogo nel terreno malarico, non si potrebbe capire perchè il massimo della sua produzione e della sua azione non dovesse verificarsi in quelle ore del giorno, nelle quali il suolo è maggiormente riscaldato dai raggi solari. Nemmeno l'ipotesi che la malaria sia dovuta ad una sostanza volatile unita ai vapori acquosi, per modo da sollevarsi insieme con essi nell'atmosfera durante il giorno, ed essere ricondotta con essi verso terra al cadere del sole, può darci la spiegazione di quella immunità della quale si può godere a pochi metri dal suolo. Infatti le nebbie che si formano alla sera nei luoghi di malaria, e che spesso nei luoghi palustri sono fetide perchè contengono dei prodotti volatili della fermentazione putrida, non si limitano ad occupare gli strati più prossimi al suolo. Esse possono essere molto folte anche ad altezze ragguardevoli; cosicchè talvolta nelle pianure e nelle valli appariscono ai primi albori, quando ancora il sole non si è affacciato sull'orizzonte, come un mare che tutto cuopre e tutto nasconde, perfino i campanili delle chiese, e colline assai elevate.

Queste considerazioni però, se valgono a dare una qualche probabilità all'ipotesi della origine parasitaria della infezione malarica, non bastano certamente a convertirla in una teoria scientifica. Per giungere a ciò è necessario dimostrare: 1° *la presenza costante di una determinata specie organica nelle varie qualità di terreni malarici e nell'aria che sovrasta ai medesimi*; 2° *che questa specie organica può da sola, cioè senza intervento di alcun altro agente morbifico, generare una vera febbre intermittente specifica*. Questa duplice dimostrazione, indispensabile al fondamento della teoria, non è stata finora ottenuta, sebbene da tredici anni molte ricerche siano state istituite a quest'oggetto.

Nel 1866 Salisbury credè di riconoscere la causa della malaria in un'alga del genere *Palmella* che egli aveva trovata in alcune paludi dell'Ohio, e che aveva veduta svilupparsi anche negli sterri praticati in quelle località palustri (1). Egli ritenne che le spore di quest'alga, sollevandosi nell'atmosfera e penetrando entro l'organismo umano, producessero la infezione malarica. In appoggio di questa sua opinione addusse il fatto, che avendo poste alcune cassette di terra contenente l'alga in discorso, sul davanzale della finestra di una stanza dove due giovani dormivano a finestra aperta, ambedue furono colpiti da febbre intermittente dopo 14 giorni. L'abitazione di questi giovani era distante cinque miglia dai luoghi paludosi dove la terra era stata presa; ma non è escluso che essi avessero visitato quei luoghi od altri altrettanto malsani. Ma anche se si potesse ammettere senza riserva, che la febbre dalla quale i due

(1) American Journal of medical Sciences. January 1866.

giovani vennero colpiti fosse generata dalla terra posta sulla loro finestra, un tale esperimento non bastava a provare che essa fosse dovuta all'azione della *Palmella gemiasma* di Salisbury, piuttosto che a quella di altre sostanze, o di altri organismi, contenuti nella terra medesima. Ed infatti più tardi è stato riconosciuto che questa *Palmella gemiasma* di Salisbury si incontra anche in luoghi saluberrimi e perfino sulle Alpi; mentre Lanzi e Terrigi (1) non l'hanno trovata se non poche volte nelle acque stagnanti della campagna di Roma, e mai ne hanno incontrate le spore nell'aria di molti luoghi malarici esaminata da loro.

Nel 1865 il dott. Pietro Balestra descrisse un'alga filamentosa trovata da lui nelle Paludi Pontine, e negli stagni d'Ostia e di Maccarese, che egli ritenne fosse la causa della malaria (2). Il dott. Balestra non determinò nè il genere nè la specie di quest'alga; però dalla descrizione che ne fece, Lanzi e Terrigi argomentarono si trattasse di una *Cladophora* o di un *Oedogonium*, che sono abbondanti in quei luoghi (3). Ma in una seconda edizione del suo lavoro pubblicata nel 1877 (4), il dott. Balestra, senza ancora determinare la pianta da lui descritta e nemmeno stabilirne le dimensioni esatte, ne ha date due figure intitolate *alga miasmatica*, talmente informi, da non poter riconoscere se si tratti di un'alga, di un fungo o di qualunque altro organismo. Quindi non si può capire quale egli abbia voluto rappresentare dei tanti organismi vegetabili microscopici che si incontrano nelle acque e nei laghi palustri, e meno ancora si può sapere se si tratti di una specie propria dei focolai di infezione malarica, od invece di una pianta capace di prosperare nello stesso modo in qualunque terreno, purchè ricco di acqua.

Gli esperimenti fatti dal dott. Balestra per provare che la pianta da lui studiata è febbrigena, non valgono certamente a dar questa prova. Egli ha trattato dei liquidi che la contenevano con soluzioni di solfito di soda, di acido arsenioso e di solfato di chinina, ed ha osservato che questi trattamenti (specialmente quello col solfato di chinina), arrestava la vegetazione della pianta e ne alterava la struttura (5). Ciò non basta a stabilire un rapporto particolare fra l'azione dei sali di chinina e la vita di questa pianta, perchè Binz ha provato da lungo tempo che la chinina uccide una gran quantità di organismi vegetali ed animali, i quali non hanno certamente alcuna influenza nella produzione della malaria. Negli stessi esperimenti del dott. Balestra, le soluzioni di chinina adoperate uccidevano e li privavano tutti gli infusori contenuti nei liquidi saggiati (6), e sopprimevano ogni fermentazione putrida, anche per un periodo di tempo lunghissimo (7). L'autore non ha cercato di dimostrare l'azione specifica della pianta da lui descritta, isolandola, procurando la febbre intermittente a degli animali colla introduzione di essa nel loro organismo. L'unica

(1) Lanzi e Terrigi, *Il miasma vegetale o malaria ed il clima di Roma*. Memoria letta all'Accademia medica di Roma il 28 maggio 1876, pag. 14.

(2) Archivio di medicina, chirurgia ed igiene di Roma. Anno I. Roma, 1869.

(3) Lanzi e Terrigi, Memoria citata, pag. 15.

(4) Balestra, *Ricerche ed esperimenti sulla natura e genesi del miasma palustre*. Roma, 1877.

(5) Balestra, Memoria citata, pag. 9 e 36.

(6) Idem, pag. 10.

(7) Idem, pag. 10 e 28.

prova che egli da della virtù febrigena della pianta è questa: che egli fu colto da una febbre intermittente, otto ore dopo aver fittato involontariamente una caraffa contenente della fanghiglia palustre, alla superficie della quale si era formato uno strato della pianta stessa (¹). Quando si pensi che ciò avvenne mentre l'autore lavorava in Roma durante l'estate, dopo aver fatte in piena estate delle escursioni alle Paludi Pontine e agli Stagni di Ostia e Maccarese onde raccogliere il suo materiale di studio, non è facile escludere che quella febbre avesse un'altra origine. Ma pur volendo ammettere che essa fosse stata procurata dalle emanazioni di quella caraffa, nulla prova che la genesi di essa fosse dovuta alla pianta che il dott. Balestra chiama *alga miasmatica*, piuttostochè ad una sostanza non organizzata, ovvero ad un altro dei tanti organismi vegetabili microscopici che si trovano nel fango palustre. Le stesse figure pubblicate dall'autore dimostrano, che nelle materie da lui studiate esisteva questa varietà di organismi, perchè i disegni che egli ha dati delle *Sporule dell'Alga miasmatica* rappresentano gruppi di germi organici molto diversi fra loro. Vi sono dei granuli piccolissimi come i micrococchi degli schistomiceti, ed inoltre dei corpi più grossi e dei filamenti simili ai germi degli ifomiceti. Probabilmente l'autore non ha attribuita alcuna importanza a queste differenze, perchè egli crede ancora al polimorfismo di Hallier, e ritiene che questi organismi possano passare indifferentemente da una ad altra forma senza cambiar di natura (²): ma ormai da vari anni i lavori di De Bary, di Ferdinando Cohn, di Nægeli e di altri botanici, hanno provata la insussistenza di questa comoda ipotesi. È a notare per ultimo, che dallo scritto del dott. Balestra non risulta, che egli abbia rinvenuta la pianta da lui creduta febrigena nei terreni malarici non palustri della provincia di Roma.

Safford e Bartlett credettero riconoscere la causa della malaria nell'*Hydrogastrium granulatum*, Archer nello *Chthonoblastus aeruginosus*. e Bargellini nella *Palmoglea micrococca*, soltanto perchè ognuno di essi trovò in abbondanza la pianta che fermò la sua attenzione, nei terreni paludosi presi in esame. Ma queste tre specie si incontrano facilmente anche in terreni salubri, purchè ricchi di umidità; mentre Lanzi e Terrigi, le hanno trovate raramente nella Campagna romana. Inoltre Lanzi e Terrigi osservano che i diametri delle spore e dei filamenti dell'*Hydrogastrium granulatum* e dello *Chthonoblastus aeruginosus* sono superiori al diametro dei capillari sanguigni, e quindi è inammissibile che tali piante penetrino nel circolo sanguigno e producano la febbre (³).

Griffini, nel 1873, istituì nei cani e nei conigli delle esperienze colla rugiada raccolta sulle paludi e sulle risaie (⁴). Questa rugiada conteneva dei batteri, dei vibrioni, alcuni filamenti di *leptothrix*, qualche *spirillum*, e molti infusori dei generi *Monas* e *Cercomonas*. Iniettandola, in quantità variabili da 75 a 100 centimetri cubici, nelle vene dei cani, Griffini ottenne poco dopo la iniezione degli aumenti di temperatura di 0°,6 a 1°,5 C., i quali durarono poco tempo ed a grado a grado scomparvero.

(¹) Balestra, Memoria citata, pag. 36.

(²) Balestra, Memoria citata, pag. 38 e 39.

(³) Lanzi e Terrigi, Memoria citata, pag. 14.

(⁴) Griffini, *Relazione intorno alle esperienze ed osservazioni sulla rugiada dei luoghi miasmatici*. *Bullentino crittogamico*. Anno I, vol. I. Milano, 1874.

La iniezione di 100 cent. cubici d'acqua di una risata, presa ai 16 di luglio, nella vena giugulare di un cane, produsse un aumento transitorio della temperatura di 0°,6 C., mentre la iniezione di 96 cent. cubici di acqua distillata nella giugulare di un altro cane, produsse un aumento della temperatura di 0°,5 C., che durò tre ore e poi scomparve. Nei conigli, le iniezioni di rugiada nella giugulare (8 a 10 cent. cubici), condussero a morte gli animali nello spazio di tempo da 5 a 12 ore, senza notevole aumento della temperatura. Un coniglio al quale erano stati iniettati sotto la pelle 2 cent. cub. della stessa rugiada, morì in 28 ore, senza che si fosse verificato alcun aumento di temperatura, ma invece un abbassamento progressivo di essa. Un coniglio al quale si erano fatti ingerire 20 grammi della rugiada, e se ne erano iniettati 5 grammi nel retto, mostrò dapprincipio un aumento di temperatura di 0°,6 C., ma poi la temperatura diminuì di 2°,5 C., ed alla fine del secondo giorno l'animale era morto.

In nessuno degli animali di prova nei quali le iniezioni produssero un aumento di temperatura, venne verificato un secondo accesso febbrile: del resto, le misurazioni della temperatura fatte dal Griffini furono troppo scarse di numero, per arrivare a determinare il tipo delle febbri ottenute. Le milze di tutti questi animali apparvero di colore, volume e consistenza normali, mentre il rigonfiamento della milza è una delle principali caratteristiche delle febbri di malaria. Non risulta che queste milze fossero sottoposte ad esame microscopico. L'esame microscopico del sangue non fece riconoscere alcun indizio di moltiplicazione in esso avvenuta negli organismi contenuti nella rugiada.

I dottori Lanzi e Terrigi di Roma si posero allo studio di questo argomento nel 1870, e comunicarono i risultati delle loro prime osservazioni alla sezione di scienze mediche dell'XI congresso degli Scienziati italiani, il 19 ottobre 1873. In allora il dott. Matteo Lanzi aveva, da una serie di culture artificiali istituite col limo raccolto in alcune località malariche della città di Roma, nello Stagno d'Ostia, e nelle Paludi Pontine, ottenuta quale specie dominante la *Monilia penicillata* Fr. (*Briarea elegans* Corda), e non era alieno dal considerarla come la causa della malaria. Più tardi però, continuando le sue osservazioni con quella assiduità e scienziosa che lo distingue, ottenne dalle sue culture una tal varietà di specie organiche, da non permettergli di mantenere il suo primo concetto. Tanto egli quanto il suo collega dott. Terrigi, temendo di essere indotti in errore da fallaci apparenze, abbandonarono la teoria parasitaria della infezione malarica che avevano sostenuta nel 1873, ed ammisero invece che la malaria consistesse in un *prodotto cadaverico vegetale*, generato dalla putrefazione delle alghe e di altre piante erbacee (*). Intrapresero quindi dei nuovi sperimenti sugli animali, specialmente col limo raccolto nello Stagno d'Ostia, ed ottennero alcuni risultati assai interessanti.

Le iniezioni intravenose ed ipodermiche praticate in inverno sui cani col limo d'Ostia raccolto nell'estate precedente, non produssero che dei turbamenti passeggeri, e nei cadaveri degli animali uccisi non fu possibile riscontrare alcuna alterazione

(*) Lanzi e Terrigi, *Il microbo vegetale o malaria ed il clima di Roma*. Memoria letta all'Accademia medica di Roma il 28 maggio 1876. pag. 13.

anatomica caratteristica della infezione malarica. La iniezione ipodermica del medesimo materiale praticata contemporaneamente nelle cavie (porcellini d'India), produsse degli stati morbosi non ben definiti, ed in uno di questi animali si trovò all'autopsia del pigmento nero nella milza e nel fegato. Non risulta che, in questa prima serie di esperimenti, gli autori misurassero la temperatura degli animali di prova.

Gli sperimenti furono ripresi sulle cavie in piena estate, con limo raccolto nello Stagno d'Ostia durante l'agosto. Prima però di cominciare questa seconda serie di prove gli autori vollero assicurarsi, mediante parecchie autopsie di cavie sane, che il sangue di esse non conteneva organismi vegetabili, nè la milza ed il fegato erano pigmento nero. La iniezione ipodermica del limo d'Ostia fu praticata in due animali. Il primo morì in 57 ore, dopo avere avuto un innalzamento di temperatura che raggiunse i 40°, C., e quindi un abbassamento di essa a 34°, C., ed in ultimo a 31°, C. La temperatura venne misurata nell'ascella. All'autopsia si trovò un piccolo ascesso contenente molti batteri nel luogo della iniezione: la milza ed il fegato erano aumentati di volume e contenevano una piccola quantità di pigmento nero; alcuni granuli dello stesso pigmento furono veduti nel sangue della vena porta. Il secondo animale morì al 32° giorno: la temperatura massima in esso riscontrata fu di 38°, C., la minima di 37°, C.: un ascesso formatosi nel luogo della iniezione si aprì spontaneamente al 22° giorno. All'autopsia si trovarono aumentati di volume la milza ed il fegato; la milza conteneva granuli di pigmento nero, e così pure il sangue della vena porta.

Gli stessi risultati, colla sola differenza di una pigmentazione maggiore della milza e del fegato, furono ottenuti in due cavie poste a respirare per molte ore del giorno in atmosfere limitate, contenenti gli effluvi del limo d'Ostia, ed in una cavia alla quale erano stati fatti respirare nella stessa guisa gli effluvi di alcuni relitti di graminacee putrescenti, raccolti fuori della porta Lateranense in agosto. Parallelamente a ciascuna di queste esperienze, un'altra cavia veniva mantenuta in una atmosfera ugualmente limitata, ma non contenente effluvi di sorta, durante lo stesso numero di ore che l'animale di prova passava nell'atmosfera limitata infetta. Nessuno degli animali che servirono a questa controprova mostrò perturbazioni patologiche; ognuno di essi venne ucciso al momento nel quale era ucciso o moriva l'animale di prova, e mai si poté riscontrare alcuna traccia delle alterazioni della milza e del fegato, trovate negli animali che avevano respirate le atmosfere infette.

I dottori Lanzi e Terrigi hanno il merito di aver proceduto in queste ricerche con maggior rigore di metodo dei loro predecessori, ed hanno fatto fare un passo verso la soluzione del problema. Infatti la pigmentazione nera della milza osservata da loro farebbe supporre che essi, nei primi, siano riusciti a produrre delle infezioni malariche negli animali. Siccome però non si conoscono con precisione i caratteri delle tumefazioni osservate nella milza, nè i rapporti fra le dimensioni della milza ed il peso del corpo di ciascun animale di prova; e dall'altro lato le misurazioni della temperatura non furono così frequenti da permettere di stabilir con certezza il tipo delle febbri ottenute, quel segno non basta ad assicurare la diagnosi delle malattie procurate dagli autori. Manca inoltre la prova che quel pigmento nero contenesse del ferro in combinazione non organica; ciò che distingue il pigmento

melanemico delle infezioni malariche da altri pigmenti neri (melanina) i quali possono prodursi in altre circostanze. Non si può quindi decidere con sicurezza se quelle febbri fossero veramente prodotte dalla infezione malarica od invece dalla infezione settica, tanto più che i materiali adoperati per suscitare erano sempre molto ricchi di materie organiche in putrefazione. Per quanto poi riguarda la natura della malaria, gli egregi autori non hanno fatto che esprimere l'opinione che essa sia costituita da una specie di veleno cadaverico vegetale, da un fermento non vivente. Ma non hanno adottata alcuna prova, diretta od indiretta, in appoggio di questa opinione; poichè nè hanno cercato di isolare questa sostanza e di dimostrare che da sola poteva generare la infezione malarica, nè si sono assicurati, prima di procedere agli esperimenti, che tutti gli organismi contenuti nelle sostanze infettanti adoperate fossero morti od uccisi.

Dopo la riunione dei Naturalisti in Cassel nel settembre 1878, noi ci proponemmo di riprendere lo studio di questo argomento nella campagna di Roma durante la primavera di quest'anno. Stabilimmo fin d'allora il metodo col quale avremmo proceduto nelle nostre ricerche, e nel corso dell'inverno uno di noi (Tommasi-Crudeli) si adoperò a studiare e precisare le varie specie di fecolai di infezione malarica che si trovano in quasi tutta la estensione dell'Agro romano (*).

Dopo questo lavoro preparatorio, incominciammo ai 9 di aprile la prima serie delle nostre osservazioni, che ha potuto essere compiuta in un tempo relativamente breve, mediante i molti aiuti prestatici da don Onorato Caetani Principe di Teano, e dai signori Alessandro e Tito Piacentini. Non essendo ancora allestito il nuovo Istituto Anatomico e Fisiologico della Università di Roma, il nostro collega Cannizzaro pose gentilmente a nostra disposizione un laboratorio nel suo bell'Istituto Chimico, e ci fornì largamente tutti i mezzi occorrenti a questo genere di ricerche.

CAPITOLO II.

Metodo della ricerca.

Onde riuscire nell'assunto che ci eravamo proposto, era necessario prima di ogni altra cosa che il metodo della ricerca fosse concepito in guisa, da tener conto di tutte le nozioni che già possediamo sulle malattie micotiche, e nello stesso tempo delle particolarità proprie delle malattie generate dalla malaria. Una vera soluzione del problema non poteva sperarsi se non per questa via, ed è certamente la mancanza di un metodo il quale rispondesse a queste diverse esigenze, che ha indotto alcuni dei nostri predecessori a risolverlo mediante una petizione di principio, invece che per mezzo di una dimostrazione rigorosa.

Una tale dimostrazione richiede in primo luogo che la infezione della quale si vuole stabilire l'etiologia, possa essere riprodotta per mezzo di un materiale grezzo proveniente dal corpo dell'uomo o dell'animale ammalato, se si tratta di malattia endogena;

(*) Tommasi-Crudeli, *Della distribuzione delle acque nel sottosuolo dell'Agro romano, e della sua influenza nella produzione della malaria*. Atti della Reale Accademia dei Lincei. Seduta del 6 aprile 1879.

ovvero proveniente dalle località capaci di generare la infezione, se questa appartiene alla categoria delle esogene. Si deve inoltre stabilire in anticipazione quali sintomi della malattia debbano essere considerati come caratteristici, e quindi atti a provare la identità dell'affezione artificialmente procurata, con la infezione che si produce naturalmente. Ciò non offre difficoltà per le malattie da infezione malarica, poichè ognuno concederà che l'intermittenza regolare degli accessi febbrili, e la produzione di tumefazioni della milza coi caratteri anatomici propri delle iperplasie spleniche malariche, bastano a distinguere questa forma morbosa da tutte le altre.

È noto che si danno alcune forme di malattie malariche diverse da quelle tipiche ordinarie, la diagnosi delle quali offre nell'uomo parecchie difficoltà. Non intendiamo parlar qui delle così dette « forme larvate » nelle quali il processo malarico è accoppiato ad un processo morboso di altra natura, ma di quegli stati febbrili di andamento continuo, che spesso nelle regioni malariche si combinano colle forme intermittenti, ed alterano il tipo della febbre da malaria per modo, che talvolta si è creduto utile di indicare la malattia non più colla denominazione generale, ma col nome della località nella quale queste forme si osservano. Tale è il caso della « febbre romana » nella quale spesso una intermittente si converte in una continua od una subcontinua, ovvero il processo febbrile assume un andamento continuo fin da principio, e perde interamente la sua caratteristica tipica.

Queste diversità delle apparenze esteriori di tali malattie sono così notevoli, che talvolta i medici hanno creduto di aver da fare con processi morbosi non dovuti alla infezione malarica, ovvero hanno negato addirittura la specificità di tutti gli stati morbosi attribuiti alla malaria e li hanno creduti prodotti dalla perfrigerazione. L'esperienza clinica ha già da lungo tempo condannata la prima opinione, e del nessun valore che va attribuito alla seconda abbiamo già parlato nel capitolo precedente. Un'altra opinione, che merita più seria considerazione, è quella secondo la quale queste anomalie del tipo febbrile sarebbero dovute ad una conversione delle febbri malariche in febbri tifoidi continue. Nulla ha provato sin qui la possibilità di una tal conversione dell'un processo morboso nell'altro: ma non è inverosimile che i due processi infettivi possano talvolta unirsi e decorrere parallelamente nello stesso individuo, sebbene la possibilità di una tale complicazione non sia stata ancora esattamente dimostrata dalle autopsie. Ciò che è provato finora, è soltanto la conversione del tipo intermittente della febbre da malaria in un tipo continuo o subcontinuo, senza alcun cambiamento nella natura del processo morboso; e questo fatto, già noto nella patologia umana, è dimostrato ancora da taluni dei nostri sperimenti sugli animali.

A priori, la produzione delle affezioni malariche negli animali potrebbe sembrare inverosimile poichè, anche nelle regioni malariche più infeste all'uomo, essi prosperano in guisa da far supporre una immunità assoluta dei medesimi rispetto alla malaria. Noi conosciamo già parecchi fatti di immunità di alcune specie animali rispetto ad alcuni veleni e ad alcune infezioni. Le galline per es. quasi non risentono l'azione dell'atropina, ciò che, in parentesi, rende assai dubbio che questo veleno agisca direttamente sopra organi essenziali alla vita. Alcune specie animali sono immuni da malattie che affliggono altre specie: molte infezioni dell'uomo non occorrono spontaneamente sulle

animali; e viceversa alcune infezioni degli animali non occorrono spontaneamente nell'uomo. Vero è, che a misura che gli studi di patologia sperimentale progrediscono, molte di queste immunità che si credevano assolute, si mostrano soltanto relative alle condizioni abituali di vita degli animali che ne godono. La infezione tubercolare e la difteritica, sono state artificialmente procurate a specie animali che nelle loro condizioni naturali di vita non vi vanno soggetti, ed ultimamente uno di noi (Klebs) ha dimostrata la possibilità della trasmissione della sifilide alle scimmie.

Ma se è facile il rendersi ragione di questa immunità relativa, quando si tratta di infezioni le quali richiedono per svilupparsi l'azione di sostanze direttamente provenienti dall'organismo degli uomini o degli animali già infetti, è più difficile ammetterla quando la causa della infezione agisce continuamente sugli animali, come è il caso della malaria. Dato che essa sia costituita da organismi parassitari, non s'intende agevolmente perchè questi, con tante occasioni offerte loro, non prendano domicilio nel corpo degli animali come in quello dell'uomo, e non vi suscitino gli stessi processi morbosi. Il contrasto fra le infelici condizioni dell'uomo in alcuni paesi di malaria, per es. nelle Paludi Pontine, e quelle di migliaia di mammiferi che stanno esposti all'azione del veleno malarico anche più degli uomini, suggerisce l'idea che in questo caso veramente si tratti di una immunità assoluta degli animali medesimi. Sembra però che vi siano delle eccezioni: disgraziatamente non abbiamo potuto verificarle per mezzo di osservazioni dirette. Si dice infatti che alcune razze di cavalli importate nell'Agro romano siano andate soggette a rigonfiamenti della milza che le hanno fatte rapidamente deperire, e si parla ancora di branchi di capre tenuti lungamente in luoghi malarici, che sono stati decimati da una malattia la quale produceva un grande rigonfiamento della milza.

Se questi fatti fossero veri, essi fornirebbero un valido argomento contro la dottrina della immunità assoluta. Ed invero, la immunità della quale questi animali godono abitualmente potrebbe essere spiegata da altre circostanze, per es. dall'acclimatazione. Abbiamo già nella specie umana l'esempio di una razza, la negra, la quale resiste più di tutte le altre razze umane alla infezione della malaria, e la quale può prosperare in regioni tropicali che la malaria rende inabitabili anche alle varietà più resistenti della razza bianca. Questa resistenza della razza negra va considerata come il risultato di una cernita naturale, prodotta dalla lunga lotta della razza contro la speciale aggressione che genera l'infezione malarica. È molto verosimile che, durante la lunga successione dei secoli, si sia prodotta per mezzo della cernita naturale una resistenza anche maggiore alle aggressioni della malaria, nelle specie animali inferiori le quali sono comparse sulla terra molto prima della specie umana. Oltre a ciò è probabile, che alcune particolarità della costruzione organica e della maniera di vivere di queste specie inferiori, dopo aver contribuito in passato alla cernita naturale che ha prodotta la loro speciale resistenza, servano anche presentemente a tutelarle dall'azione della malaria, finchè alla malaria non vengono offerte altre vie, oltre le naturali, per penetrare nell'interno del loro organismo. Merita specialmente attenzione la struttura delle cavità nasali in quasi tutti i mammiferi. Esse formano dei canali più lunghi e più tortuosi di quelle dell'uomo, e lo sviluppo maggiore dei turbinati rende in esse molto più estesa la superficie umida sulla quale l'aria

inspirata deve scorrere. Nell'ipotesi che i portatori della malaria siano dei corpuscoli sospesi nell'atmosfera, questa differenza nella struttura delle cavità nasali avrebbe una grande importanza, tanto più se si rifletta che quegli animali respirano abitualmente a bocca chiusa, mentre nell'uomo la respirazione è principalmente buccale; cosicchè la maggior parte dell'aria inspirata dall'uomo può penetrare fino ai suoi polmoni, senza aver subita alcuna specie di filtrazione entro le cavità nasali.

Sarebbe molto interessante, onde apprezzare l'influenza che questa struttura delle cavità nasali può avere nel determinare la immunità abituale dei nostri mammiferi rispetto alla malaria, fare degli esperimenti, esponendo alla sua azione alcuni di essi privi dei turbinati. Al nostro scopo occorre soltanto di assicurare la introduzione nel circolo delle materie le quali presumibilmente contenevano il veleno malarico, e di osservare se dopo ciò si produceva una vera febbre di malaria negli animali di prova. Quindi ci limitammo alle iniezioni sottocutanee delle materie sospette, ed ottenemmo così dei risultati positivi dei quali daremo il resoconto nel capitolo seguente.

Onde giudicare della natura della malattia generata in questa guisa negli animali, interessa prima di tutto che la temperatura di essi venga misurata molto spesso e molto esattamente. Non basta verificare mediante poche misurazioni quotidiane la produzione di una febbre, ma bisogna ben stabilire il tipo di questa febbre mediante il maggior numero possibile di misurazioni. Noi abbiamo nei nostri animali di prova misurata la temperatura del retto ogni due ore, dalle 6 antimeridiane fino alle 10 pomeridiane, e talvolta anche a mezzanotte. Da principio adoperammo un termometro centigrado a massima di Geissler, ma questi essendosi rotto, adoprammo un altro buon termometro comprato in Roma. Ambedue questi termometri, per una coincidenza singolare, segnavano un decimo di grado meno del normale, secondo le determinazioni che il nostro collega Cannizzaro fece fare nel suo laboratorio. Nelle nostre tavole di cifre, e di curve delle temperature, abbiamo ommesso di fare questa piccola correzione, la mancanza della quale non altera le relazioni reciproche delle varie parti di esse.

È necessario inoltre notar sempre con cura il peso degli animali prima di incominciare le ricerche, e durante tutto il corso delle medesime. La diminuzione del peso del corpo che si verifica nella massima parte dei processi febbrili, manca da principio nella febbre di malaria e non comparisce se non più tardi. Nei primi tempi della malattia, specialmente quando essa ha un vero tipo intermittente, l'appetito cresce, e ciò spiega questo fatto che a prima giunta sembra paradossale. Soltanto quando dopo ripetuti accessi febbrili, od in seguito ad una conversione del tipo intermittente in un tipo continuo o subcontinuo, si producono alterazioni profonde nella composizione del corpo, si manifesta una perdita, spesso assai rapida, del peso. Questa particolarità relativa al peso del corpo è una caratteristica assai importante della infezione malarica, e perciò deve essere tenuta in gran conto durante le ricerche sugli animali.

Viene per ultimo l'osservazione anatomica. Di fronte agli effetti prodotti dalla iniezione sottocutanea di liquidi od altre sostanze capaci di generare la infezione settica, può fornire una indicazione diagnostica assai importante la mancanza o la piccolezza della suppurazione nei luoghi dove la iniezione venne praticata, come pure

la mancanza di altri processi infiammatori negli organi interni. La identità della malattia prodotta artificialmente e delle malattie malariche dell'uomo, può esser provata dallo stato della milza, la quale in queste ultime presenta delle tumefazioni iperplastiche. Mentre nei processi settici la forma della milza viene modificata dall'arrotondamento degli orli e degli spigoli, la tumefazione splenica della infezione malarica apparisce quale un ingrandimento regolare di tutto l'organo, le sezioni trasverse del quale somigliano a quelle della milza normale, e soltanto sono più grandi in tutte le dimensioni. Per ottenere delle riproduzioni esatte e veritiere di queste dimensioni della milza nel corso delle nostre ricerche, abbiamo adoperato un metodo che possiamo indicare col nome di « Stampa naturale », e consiste nel tingere con un poco di sangue la milza appena tolta dal corpo, ed applicare su carta bianca a colla la faccia convessa dell'organo, e poi la superficie delle sue sezioni trasversali. Per ottenere una stampa perfetta della prima, è necessario premere leggermente con un ago gli orli della milza sulla carta. In questa maniera abbiamo ottenute tutte le figure della nostra tav. I.

Un'altra caratteristica delle affezioni malariche è la produzione del pigmento nero di origine sanguigna, la quale non si verifica soltanto nelle forme perniciose, ma anche in casi di febbri intermittenti meno gravi e di lunga durata può riscontrarsi nella milza, e talvolta nel midollo delle ossa. Nelle forme più gravi questo pigmento si produce in maggiore abbondanza, si trova in tutta la estensione del circolo sanguigno e si deposita nei vari organi del corpo. Esso, a differenza della *melanina*, contiene del ferro in combinazione non organica, e trattato con acido idroclorico e ferro-cianuro di potassio produce il bleu di Berlino. La sua provenienza diretta dall'emoglobina del sangue è ormai accertata, come vedremo in seguito. Una simile alterazione dell'emoglobina durante la vita non è stata osservata in alcuna altra malattia (ad eccezione forse dei melanosarcomi), e quindi la presenza di questa specie di pigmento nero deve essere considerata come una delle migliori caratteristiche delle affezioni malariche, tanto nei casi di produzione naturale di esse, quanto nei casi nei quali esse sono state artificialmente procurate.

Una volta riusciti, mediante i segni ricavati dai disturbi funzionali e dalle alterazioni anatomiche, a provare l'identità delle malattie prodotte negli animali mediante la iniezione di un materiale grezzo, colle malattie malariche sviluppatasi spontaneamente nell'uomo, è necessario isolare da questo materiale grezzo quelle sostanze che debbono essere considerate come i veri eccitatori della malattia.

Partendo dal concetto che anche questa infezione, come alcune altre infezioni l'etiologia delle quali è adesso conosciuta, sia determinata da organismi vegetabili parassitari, l'isolamento della sostanza attiva va considerato come possibile. A tale oggetto debbono essere impiegati quei materiali grezzi i quali, introdotti negli animali di prova, si sono mostrati capaci di produrre una grave infezione malarica, senza che si siano verificate apprezzabili complicazioni di altri processi morbosi, specialmente settici. In tali materiali è presumibile che, oltre agli eccitatori della infezione specifica, si trovino altre sostanze le quali non contribuiscono alla sua produzione. Queste possono essere degli organismi viventi, ovvero delle materie non organizzate. In una ricerca di tal genere non occorre occuparsi che dei primi, i quali,

in generale, debbono essere considerati dal punto di vista biologico, quali concorrenti degli organismi specificamente nocivi. Quindi lo sviluppo e la moltiplicazione di essi debbono incontrare tanto maggiori difficoltà, quanto più favorevoli sono le condizioni di vita offerte a questi ultimi. Queste condizioni di vita dei presunti organismi della malaria ci sono conosciute: esse sono quelle stesse che l'esperienza ha dimostrato indispensabili allo sviluppo della malaria nei terreni atti alla sua produzione, cioè: 1° una temperatura assai elevata; 2° una permanente umidità del campo di produzione; 3° una diretta azione dell'atmosfera sul medesimo.

Noi abbiamo riprodotte queste condizioni nella maniera seguente. In un gran bagno d'aria molto ben ventilato dell'Istituto Chimico di Roma, furono disposte su delle assicelle di legno sovrapposte allo strato di sabbia riscaldato dal gas, delle grandi capsule piane di porcellana. Alcune di queste venivano ripiene, per un'altezza di circa 5 centimetri, di terra mantenuta costantemente umida. Altre contenevano uno strato d'acqua il quale veniva rinnovato via via che la evaporazione lo esauriva, e dentro di esse erano poste delle cassette aperte di latta, ripiene di terra. Le pareti di queste cassette erano bucherellate a poca distanza dal fondo, cosicchè l'acqua della capsula vi penetrava e manteneva costantemente umidi gli strati inferiori delle terre. Dei termometri erano disposti in modo da poter verificare continuamente la temperatura dell'aria e delle terre: le fiamme del gas e la ventilazione del bagno d'aria erano regolate in guisa da mantenere, durante tutto il giorno, la temperatura fra i 30° e i 35° C. Alla sera il gas veniva spento, e la temperatura del bagno d'aria e delle terre in esso contenute si equilibrava durante la notte con quella del laboratorio.

Così venivano riprodotte in questi acquitrini artificiali, simili a quelli che sono così numerosi nella Campagna romana e che uno di noi ha illustrati altrove (1), tutte le condizioni di umidità, di temperatura, di azione libera dell'atmosfera e di libera evaporazione alla superficie, che si verificano nei terreni malarici nelle stagioni nelle quali essi spiegano la maggiore attività di produzione.

L'effetto più notevole di una tal disposizione era questo: che quasi subito una gran quantità di organismi contenuti nelle terre e nei fanghi sottoposti a questo trattamento, morivano. Lo sviluppo delle diatomee e delle desmidiacee, ed anche lo sviluppo degli ifomiceti, veniva sospeso. Non si formavano mai delle muffe alla superficie delle terre o dei vasi: ed i fenomeni di putrefazione cessavano nei fanghi palustri, mentre raggiungevano invece un alto grado se questi fanghi erano tenuti sotto campane di vetro, cioè in atmosfere limitate.

Questa eliminazione di una gran parte degli organismi contenuti nel materiale grezzo, rendeva più facile la ricerca di quelle forme organiche le quali potevano avere importanza nella produzione delle affezioni malariche. In questa ricerca adoperammo un metodo immaginato da uno di noi (2) che lo chiamò delle «culture frazionate», il quale è stato più tardi adottato da Pasteur (3), e per mezzo del quale si è già ottenuto l'isolamento di vari organismi patogenici.

(1) Tommasi-Crudeli, Memoria citata.

(2) E. Klebs, *Arbeiten aus dem Berner pathologischen Institut*, 1871, 1872. Würzburg, 1873 p. 130.

(3) *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 19 avril 1878. Tome LXXXV, pag. 1967.

Quando da un liquido, il quale contiene una non troppo grande varietà di organismi vegetali, si toglie una sola goccia e la si pone in un liquido di cultura, se questo è atto a favorire lo sviluppo di tali organismi, vi si sviluppano in maggior numero quelli i quali si trovavano in maggior copia nella goccia tolta dal liquido primitivo. Ordinariamente questa preponderanza di sviluppo si verifica in quelli organismi, ai quali si deve l'azione morbigena spiegata da questo liquido negli esperimenti fatti con esso. Quando ciò non sia, si variano il fondo della cultura e le condizioni di temperatura e di azione dell'aria atmosferica nelle quali è posto, per modo da riuscire ad uccidere gli organismi patologicamente inattivi, o almeno ad opporre tali ostacoli al loro sviluppo che permettano agli organismi patogenici di prendere il disopra. Se ciò riesce anche in una sola cultura, divien facile, mediante ripetizioni successive della medesima operazione, separare gli organismi indifferenti scarsamente sviluppatisi, dagli organismi patogenici che si sono sviluppati sempre più abbondantemente, ed ottenere in ultimo una cultura contenente questi organismi patogenici ad esclusione degli altri.

Se le ricerche sperimentali fatte con questa cultura pura, provano che essa suscita gli stessi processi morbosi ottenuti per mezzo del materiale grezzo, rimane ancora a decidere se una tale azione patogenica è esercitata dalle parti liquide del fondo di cultura, o dagli organismi che esso contiene. Veramente, quando la cultura finale è il risultato di molti successivi allevamenti, è difficile ammettere che l'attività patogenica risieda nelle sostanze liquide del primitivo materiale, pervenute sino a quest'ultima cultura a traverso tutte le precedenti. Infatti, in ogni nuova cultura, le parti liquide della cultura precedente vengono introdotte in piccolissima quantità entro masse relativamente grandi del fondo di cultura, e vanno successivamente diluendosi in progressione geometrica. Ciò non ostante, per ottenere una prova completa della esclusiva efficacia patogenica degli organismi allevati, bisogna assicurarsi, mediante ricerche dirette, della inefficacia delle parti liquide della cultura finale. A ciò si giunge colla filtrazione, praticata a traverso dei cilindri d'argilla o dei filtri di gesso per mezzo di grandi differenze di pressione atmosferica (Klebs, Zahn, Pasteur), od anche a traverso della buona carta svedese da filtro. L'uso di quest'ultimo modo di filtrazione, che certamente è il più semplice ed il più comodo, non è sufficiente ad operare la separazione quando si ha da fare con organismi patogenici minutissimi, come quelli della setticoemia, della difterite, del reumatismo e simili: ma nel caso della malaria, abbiamo potuto ottenere talvolta anche per mezzo di esso una diminuzione progressiva della efficacia morbigena del liquido filtrato. *Siccome tutte le parti liquide traversano senza ostacolo i pori del filtro, si ottiene anche in questo modo la prova che le particelle solide trattenute in totalità, o nella massima parte, sul filtro, sono i contenenti dell'attività patogenica spiegata dalla cultura presa in complesso.*

Questa prova è certamente più sicura di quella che potrebbe essere dedotta da lavacri, praticati nell'intento di sbarazzare le particelle solide della cultura finale dalle parti fluide che possono aderirvi. Infatti, se dopo i lavacri le sostanze solide della cultura esercitano ancora un'azione patogenica, si può sempre credere che ciò sia dovuto alla insufficienza dei lavacri usati: se invece non ne esercitano alcuna,

può venire il dubbio che il liquido adoperato nei lavaeri abbia alterati gli organismi contenuti nella cultura stessa. Siccome non abbiamo alcun criterio per regolare la durata e la intensità dell'operazione, il risultato di essa è necessariamente incerto e non può servire a stabilire delle conclusioni. Quindi è da preferire il metodo adoperato da noi, nel quale la prova finale è fornita dalla inefficacia del liquido di cultura, *spogliato in modo puramente meccanico* di tutte le particelle solide che conteneva.

CAPITOLO III.

Ricerche.

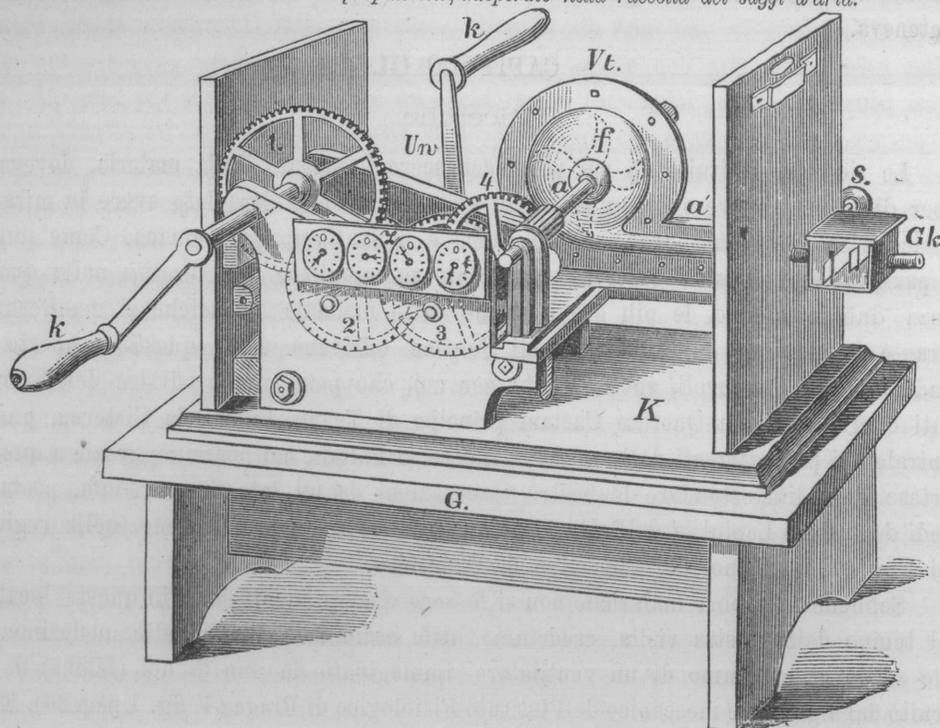
Le ricerche istituite da noi per riconoscere la natura della malaria, dovevano esser dirette a risolvere la quistione in generale, e dall'altro lato avere in mira le particolarità di questa produzione in Roma e nella Campagna romana. Come punto di partenza delle nostre osservazioni occorre scegliere una località nella quale, senza dubbio alcuno, le più gravi forme delle malattie malariche si manifestano durante la stagione calda. Le Paludi Pontine offrivano sotto questo rapporto le condizioni più favorevoli, specialmente per noi, che potevamo profittare dei liberali aiuti offertici da don Onorato Caetani principe di Teano. Infatti da Cisterna, punto centrale dei possedimenti della casa Caetani nelle Paludi, noi potemmo grazie a questa cortese liberalità, estendere le nostre osservazioni da un lato fino a Ninfa, posta ai piedi dei monti Lepini, e dall'altro lato fino alla costa del mar Tirreno, nella regione dei laghi di Fogliano, dei Monaci e di Caprolace.

Sebbene le febbri malariche non si fossero ancora manifestate in queste località nel tempo della nostra visita, credemmo utile esaminare l'aria delle medesime. A tale scopo ci servimmo di un ventilatore immaginato da uno di noi (Klebs) e costruito dal sig. Rothe meccanico dell'Istituto Fisiologico di Praga (V. fig. 1 pag. 26). Esso costituito da una scatola di rame a sezione ellittica, nel centro della quale ruota un asse che sostiene quattro ali metalliche, di forma adattata alla cavità della scatola e leggermente curve. L'apertura per la quale l'aria entra nella scatola è situata lateralmente, è circolare, del diametro di 2,5 centimetri, e l'asse del ventilatore ne traversa il centro. Onde potere aspirare l'aria di un punto determinato, anche lontano, si può allungare a piacere il corto tubo metallico adattato a questa apertura, aggiungendovi dei tubi leggeri di guttaperca, uniti fra loro per mezzo di tubi di caoutchouc. L'aria esce con forza dalla scatola per mezzo di un'apertura del diametro di 1 cent., alla quale è adattato un tubo metallico che sporge fuori dell'apparecchio. A questo tubo si possono unire i diversi congegni destinati a raccogliere l'aria che n' esce, sia entro sistemi di tubi contenenti dei liquidi, sia entro apparecchi nei quali sono disposte delle placche di vetro, che vengono perpendicolarmente colpite dalla corrente d'aria e che, essendo spalmate con un liquido viscoso (per es. glicerina e colla), fissano le particelle solide trascinata dalla medesima.

La superficie interna della scatola del ventilatore e le ali metalliche del medesimo possono esser sempre mantenute accuratamente pulite, perchè la scatola è formata da due metà simmetriche unite per mezzo di viti. La rotazione del ventilatore è procurata da un movimento di orologeria, che vien posto in azione per mezzo di due

manubri laterali, disposti in modo da poterli far girare senza alcuna fatica adoperando ambedue le mani ad un tempo. In questo modo si possono ottenere in 17 minuti 50,000 rivoluzioni dell'asse del ventilatore, ed aspirare così 300 litri d'aria. Nelle nostre ricerche potemmo per lo più ottenere questo numero di rivoluzioni, notato da un contatore, in 15 o 16 minuti.

FIG. 1. — Ventilatore a propulsione, adoperato nella raccolta dei saggi d'aria.



a. Asse che muove le ali metalliche *f.* *Vt.* Scatola del ventilatore. *a'* Tubo pel quale l'aria esce dalla scatola. *Gk.* Cassettina entro la quale l'aria aspirata viene spinta. *S.* Vite che fissa la cassetta *Gk* al tubo d'ingresso dell'aria. 1, 2, 3, 4. Ruote del movimento d'orologeria *Uv.* *kk.* Manubri. *z.* Contatore. *K.* Piano inferiore dell'apparecchio. *G.* Sgabello portatile.

Andremmo troppo per le lunghe se volessimo esporre qui i risultati delle diverse prove fatte di questo apparecchio, in varie località e circostanze, prima di adoperarlo nelle nostre ricerche. Possiamo dire in generale, che un simile ventilatore a propulsione permette di fissare tutte le particelle solide contenute in una data quantità d'aria, con maggiore sicurezza della combinazione di una banderuola con un imbuto entro il quale essa dirige le varie correnti atmosferiche, adoperata da Lewis e Cunningham, ed ultimamente applicata anche in Montsouris: perchè quando la corrente aerea diretta entro l'imbuto ha una piccola velocità, molti dei corpiccioli sospesi nell'aria non rimangono fissati sulla placca di vetro. L'aspiratore di Pouchet non ha questo difetto, ma esso è un apparecchio che diviene difficile a trasportarsi quando si vuole operare su notevoli quantità d'aria, e dirigerle a grande velocità contro la placca di vetro che deve fissare i pulviscoli aerei.

Nell'aria delle città la polvere di carbone supera in quantità tutte le altre specie di corpuscoli; ed anche in Roma, una prova fatta il 7 aprile in cima al Viminale ci fece trovare una gran quantità di polvere di carbone, delle polveri silicee e di pozzolana, alcune fibre di cotone e di lino, un granulo d'amido ed una spora di

fomiceto. Sembra, anche per altre prove da noi fatte, che la massa delle spore che si trovano nell'aria sia molto minore di quello che generalmente si crede, almeno quando si osserva l'aria presa a qualche metro al disopra del suolo o nei piani superiori delle case. L'osservazione microscopica diretta dei materiali così raccolti dà dei risultati incerti, perchè spesso i pochi micrococchi e bastoncelli che vi si trovano mescolati a tante altre sostanze, sfuggono alla vista per la loro piccolezza. Noi non abbiamo trascurato di fare delle osservazioni anche in questo modo, ma diamo un valore molto maggiore all'uso fatto di questi materiali per istituire delle culture, poichè per mezzo di queste abbiamo ottenuti alcuni dei nostri risultati più sicuri, i quali provano che nelle regioni malariche il veleno della malaria si solleva un poco al di sopra del terreno, anche prima del tempo nel quale si manifestano le infezioni nell'uomo.

Prima della nostra escursione nelle Paludi Pontine raccogliemmo in Roma quattro di questi saggi d'aria, e quindi il 9 aprile uno in Ninfa (n. 5), il 10 aprile uno in Tre Ponti sulla via Appia (n. 6) e nel giorno 11 aprile cinque nei laghi littoranei (n. 7-11) (*). Per ogni saggio furono impiegati 300 litri d'aria aspirati in vicinanza del suolo. In Ninfa l'aria fu presa al di sopra di un terreno coperto di vegetazione, vicino ad una chiesa rovinata; in Tre Ponti da un terreno paludoso vicino alla via Appia. Il saggio n. 7 fu preso sul lago di Fogliano vicino alla duna, in un luogo dove il terreno esalava un assai cattivo odore. La temperatura dell'acqua del lago era di 15° C. alle 9 e 15 minuti del mattino; quella dell'aria di 15,75° C. Alle 12 meridiane, dopo una piccola pioggia, la temperatura dell'acqua era nella *Fossa papale*, che unisce i due laghi dei Monaci e di Caprolace, 16,5° e 16,17° C.; quella dell'aria 18,2°. I saggi n. 8 e 9 furono presi sul lago di Caprolace fra l'1 e le 2 pomeridiane; quelli n. 10 e 11 sulla riva orientale dello stesso lago, formata da un fondo palustre, fra le 2 e mezzo e le 3 pomeridiane. Alle 4 la temperatura dell'acqua era di 17° C. nella *Fossa papale* e quella dell'aria 17,6°; alle 5, nel lago dei Monaci, la temperatura dell'acqua era 16°, e quella dell'aria 16,75°; alle 5 e mezzo, nel lago di Fogliano, la temperatura dell'acqua era 16,5° e quella dell'aria 15,5°.

Furono inoltre posti sulle acque dei laghi alcuni apparecchi, formati da tavolette di sughero forate, nei quali i fori erano coperti da placche di vetro che avevano spalmata di glicerina e colla di pesce la faccia rivolta verso l'acqua. Questi apparecchi erano coperti da piccole tettoie di tela incerata onde preservarli dalla pioggia.

L'esame del saggio d'aria n. 9 fatto nel Casino stesso di Fogliano, fece vedere alcuni corti bastoncelli della lunghezza di 2,25 a 6,75 μ e della larghezza di 0,225 a 0,45 μ , un bastoncello della lunghezza di 11,25 μ , ed oltre a ciò un pezzetto di epidermide vegetale ed una fibra di cotone. Nel saggio n. 11, oltre a delle polveri minerali e ad alcune fibre vegetali, furono trovati dei bastoncelli simili a quelli del saggio n. 9, ed alcuni filamenti lunghi e curvi della lunghezza di 22,50 micromillimetri.

L'acqua presa nel mezzo del lago di Caprolace l'11 aprile, ed esaminata il 14, conteneva una gran quantità di batteri immobili, dei fili di alghe colorate dalla clorofilla, parecchi infusori, e le seguenti forme di schistomiceti: 1° filamenti sottili, talvolta assai lunghi, omogenei; 2° alcuni piccoli corpuscoli rotondeggianti (micrococchi?);

(*) Per ognuno di questi saggi furono adoperate due placche di vetro, poste una dietro l'altra in una cassetina, entro la quale era spinta l'aria del ventilatore.

3° bastoncelli semoventi di diverse lunghezze; 4° corpicciuoli rotondeggianti disposti in serie; 5° filamenti, in parte articolati, contenenti dei corpuscoli lucenti.

Il limo del Caprolace, preso nello stesso punto della riva dove erano stati raccolti i saggi d'aria n. 10 e 11, conteneva le medesime forme organiche, una notevole quantità di grandi infusori, moltissime diatomee, e dei vermicelli detati di movimenti molto vivaci, che probabilmente erano larve di nematodi. L'11 aprile, nel luogo medesimo dove questo limo venne raccolto, ne fu introdotta colla punta di uno spillo una quantità piccolissima entro un tubo chiuso alla lampada, contenente della gelatina purissima di vescica di pesce. Questo tubo venne immediatamente chiuso con del cotone già tenuto ad alta temperatura (tubo di cultura n. 1): il 14 aprile fu chiusa alla lampada in un tubo consimile una porzione d'acqua del Caprolace (tubo di cultura n. 2). Ambedue questi tubi vennero posti in una stufa, ed ivi mantenuti alla temperatura di 30° a 34° C.

Il 15 aprile una piccola porzione del contenuto del tubo di cultura n. 1 venne posta in una camera ad aria microscopica⁽¹⁾. L'osservazione di essa dimostrò che le diatomee erano tutte morte; dei nematodi non si vedeva più traccia; i filamenti degli ifomiceti non avevano subito ulteriore sviluppo. Degli schistomiceti si distinguevano due forme: dei fili curvi, talvolta tortuosi, tal'altra piegati ad ansa, nei quali non si vedeva alcuna traccia di divisione o di differenziazione della loro sostanza, e dei bastoncelli i quali contenevano un granulo lucente ad ognuna delle estremità (tav. II, fig. 7 c). Altri bastoncelli, anche più piccoli, contenevano un terzo granulo nel mezzo (tav. II, fig. 1 f). Si trovarono inoltre dei filamenti sprovvisti di nuclei, alcuni dei quali non mostravano alcun indizio di divisione (tav. II, fig. 1 a), mentre in altri il protoplasma era a metà della lunghezza diviso in due da uno spazio chiaro, nel quale si poteva riconoscere la presenza di una membrana (tav. II, fig. 1 b). Finalmente si videro dei filamenti lunghi e tortuosi, simili a quelli della fig. 7, i quali contenevano una quantità notevole di granuli brillanti (tav. II, fig. 1 d). In questi ultimi si poté osservare uno sviluppo straordinariamente rapido; perchè, mentre la figura d rappresenta esattamente uno di tali filamenti, quale lo si vedeva al mezzogiorno del 15 aprile, il medesimo filamento aveva preso alle 2 pomeridiane la forma d'; cioè a dire era cresciuto quasi del doppio in lunghezza, era divenuto più grosso, e conteneva una gran quantità di corpuscoli brillanti, i quali, specialmente nella estremità più sottile, erano accumulati in guisa da dare l'impressione di un protoplasma granuloso molto meglio di quanto apparisce dalla figura.

Dominavano dunque principalmente due forme: filamenti omogenei con scissione incipiente, e filamenti con produzione di spore, in alcuni dei quali il protoplasma era divenuto granuloso. Soltanto per mezzo di ulteriori osservazioni del medesimo preparato era possibile decidere se le due forme fossero tra loro collegate. Una terza forma (tav. II, fig. 1 e) costituita da cellule fusiformi contenenti degli ammassi protoplasmatici assai

(1) Le migliori camere ad aria per osservazioni microscopiche sono quelle fornate da portoggetti del modello inglese, che hanno una scanalatura circolare nel mezzo. Il livello di quella parte del vetro che è inclusa nella scanalatura, è abbassato in guisa da lasciare fra essa e la superficie inferiore del vetrino di coperta uno spazio di 0,2 Mm. Questi vetri, dopo essere stati accuratamente puliti, vengono involti in carta da filtro e mantenuti per 12 a 24 ore ad una temperatura di 109° a 120° C. Appena disposto e ricoperto il preparato, lo si chiude ermeticamente fissando il vetrino di coperta con una mistura di colofonia e cera.

grossi, della quale si videro alcuni esemplari in questo preparato, appartiene ad un'altra serie organica, ed a misura che le due prime forme andarono sviluppandosi, scomparve.

Questa stessa cultura esaminata il giorno 16 aprile, dopo essere stata costantemente mantenuta ad una temperatura di 30° a 34° C., mostrava una gran quantità di filamenti assai lunghi con molti granuli, ed altri filamenti con protoplasma omogeneo, talvolta disposti parallelamente l'uno all'altro, in alcuni dei quali si vedevano molteplici divisioni trasversali (tav. II, fig. 3). Alle 9 ant. del 17 aprile vi si trovarono inoltre numerosissimi filamenti tortuosi, specialmente nell'orlo vicino alla scanalatura contenente l'aria: non si vedevano più i bastoncelli corti con due o tre granuli (fig. 7 c e fig. 1 f) che il giorno innanzi si osservavano ancora in alcuni punti esattamente determinati. Invece vi si incontravano le forme che son disegnate nella tav. II, fig. 2 quali le mostrava l'obiettivo di $\frac{1}{2}$ di pollice di Zeiss (immersione ad olio). La figura più piccola rappresenta queste forme vedute coll'oculare n. 0 di Zeiss, e le altre due quelle vedute coll'oculare n. IV. Erano filamenti articolati, i singoli articoli dei quali erano limitati da una membrana anche nei punti di divisione. I più piccoli di questi articoli avevano un protoplasma omogeneo; i più grossi contenevano un granulo assai voluminoso, ovale, brillante, ed applicato alla parete verso il mezzo; ovvero due granuli, più piccoli e rotondeggianti, alle estremità; ed invece un granulo mediano e due terminali. Alcune osservazioni ci hanno condotti a credere verosimile che nei luoghi dove erano situati i granuli mediani avvenisse una ulteriore divisione degli articoli, ma non ci è riuscito di seguire l'andamento di questo processo, il quale probabilmente è molto rapido.

Lo stesso giorno 17 aprile, alle 2 pomeridiane, vennero studiati i filamenti articolati a protoplasma omogeneo della fig. 3 col $\frac{1}{2}$ di pollice di Zeiss e l'oculare n. II. I singoli articoli erano separati fra loro da interstizi sottili, nei quali talvolta si vedevano tracce di una membrana divisoria: raramente si scorgevano delle linee chiare fra le due estremità dell'articolo. La disposizione degli articoli era in serie lineari semplici, ovvero era dicotomica: non sappiamo però se questa dicotomia fosse il risultato della divisione longitudinale di un articolo, o delle deviazioni laterali dei nuovi articoli terminali. Questa ultima origine è molto più probabile della prima, perchè non abbiamo mai potuto vedere un principio qualunque di divisione longitudinale del protoplasma. Talvolta gli articoli terminali si trovavano in una direzione perpendicolare a quella dei precedenti, ciò che induce a credere che essi ne fossero distaccati, e che la posizione presa da essi fosse dovuta alle resistenze incontrate accidentalmente nel liquido dove erano immersi, come pure all'attività di accrescimento degli articoli che li avevano spinti in avanti. In questo periodo della evoluzione mancava ogni auto-movimento dei protoplasmi.

Il 26 aprile, cioè al 12° giorno di questa cultura, mantenuta sempre alla temperatura di 30° a 34° C., si vedevano lungo tutto l'orlo del preparato questi filamenti, nei quali non si erano prodotte ulteriori divisioni. Essi erano disposti a gruppi i quali, partendo dall'orlo della camera d'aria, si distendevano a guisa di ventaglio verso le parti più centrali del preparato: uno di questi gruppi, debolmente ingrandito coll'obiettivo E di Zeiss e l'oculare n. II, è rappresentato dalla fig. 6 della tav. II. Sebbene gli articoli componenti questi filamenti fossero debolmente connessi fra loro, i filamenti mantenevano la loro continuità, correvano dapprima parallelamente, poi si

divaricavano ed anco si incrociavano. Gli articoli più piccoli avevano una lunghezza di 2,25 μ ed una larghezza di 1,125 μ .

Da questi primi saggi di cultura si rilevava come, sotto l'influenza combinata della materia adoperata come fondo di cultura, di una determinata temperatura, e dell'azione dell'aria, molti degli organismi contenuti nel materiale grezzo erano periti, mentre dall'altra parte si erano sviluppate in grande quantità delle forme di schisticeti appartenenti al genere *Bacillus*. Le due diverse specie di filamenti, gli uni con articoli omogenei, gli altri con articoli contenenti dei granuli o spore, molto probabilmente derivavano l'una dall'altra, poichè si vedevano talvolta congiunte nella medesima pianta. Sarebbe dunque questo un *Bacillus*, il quale si distinguerebbe dal *Bacillus subtilis* (F. Cohn) delle infusioni di fieno, come dal *Bacillus anthracis* (Koch) del carbonchio, e sarebbe caratterizzato così:

« Bastoncelli della lunghezza di 5 a 10 micromillimetri, che sviluppandosi si convertono in filamenti tortuosi, i quali si dividono in articoli mediante la produzione di spazi chiari nel protoplasma, ovvero, più raramente, per mezzo di membrane separatrici. Questi filamenti, nelle superficie esposte all'azione dell'aria, producono delle serie di articoli molto corti, e sviluppano nel loro interno delle spore prima che la divisione in articoli avvenga, oppure dopo che essa è già avvenuta. Le spore occupano il mezzo o le estremità degli articoli, ovvero il mezzo e le estremità nello stesso tempo: quando la divisione in articoli non avviene, esse si moltiplicano divenendo sempre più piccole, e riempiono di una massa granulosa l'interno del filamento ».

Siccome le medesime forme si poterono ripetutamente ottenere da simili culture, istituite nella gelatina purissima con varie specie di terreni presi nei luoghi di malaria (mentre altre forme organiche non comparivano se non eccezionalmente, ovvero perivano in seguito allo sviluppo preponderante di questo *Bacillus*), congetturammo che forse questa pianta potesse essere il portatore della malaria. Occorreva quindi procedere agli esperimenti sugli animali, onde apprezzare il valore di questa congettura.

I nostri esperimenti vennero tutti istituiti in conigli provenienti da buone razze, per lo più molto robusti, nei quali le autopsie non fecero mai riscontrare alcuna alterazione dovuta a stati morbosì anteriori. Essi erano tenuti in stalle di legno spaziose e bene aereate, appositamente costruite, e poste in un locale del laboratorio chimico vicino alla nostra stanza di lavoro, il finestrone del quale era sempre tenuto aperto. Il fondo di ogni stalla era formato da una rete di fil di ferro, al di sotto della quale un imbuto di zinco raccoglieva le urine e le dirigeva in un vaso posto al di fuori della stalla. Le stalle ed il pavimento della stanza vennero sempre nettati con molta accuratezza: gli animali erano nutriti con foglie di cavolo.

Gli animali vennero, a misura che entrarono nel laboratorio, indicati con numeri romani progressivi i quali, per evitare ogni possibile confusione, venivano scritti sul loro dorso denudato di pelo con dei colori di anilina. Le medesime cifre sono state adoperate per distinguere le curve delle temperature (tav. III, IV, V) e le stampe naturali della milza (tav. I) di ciaschedun animale, cosicchè riesce facile paragonare le osservazioni relative ad ognuno di essi.

Siccome per lo più si istituirono colle varie sostanze adoperate delle ricerche parallele, possiamo dividere queste ricerche in gruppi.

I.^o Gruppo. *Conigli normali*. Onde stabilire la grossezza normale della milza vennero scelti due conigli assai belli, robusti e sanissimi (n.^o XVII e XVIII) ed uccisi appena portati nel laboratorio. La morte venne procurata per mezzo di un laccio serrato al collo ed una forte trazione esercitata nello stesso tempo sulle estremità posteriori. Questa maniera di uccisione venne adoperata in tutti i nostri conigli (ad eccezione dei n.^o I e II che vennero dissanguati): essa procura una morte immediata e per lo più senza convulsioni, cosicchè si evita ogni perturbazione del circolo capace di alterare il volume della milza.

Onde evitare l'azione di qualunque liquido estraneo sulla milza degli animali nei quali precedentemente avevamo prodotte delle infezioni, e sui quali torneremo più tardi, noi avevamo dovuto astenerci dal fare la determinazione del volume di quest'organo. Anche un' esatta determinazione del peso offriva delle difficoltà a causa della evaporazione, trattandosi di un organo il quale, sebbene sia nel coniglio molto piccolo, ha relativamente una gran superficie. Quindi, invece di fare la determinazione del volume e del peso della milza, avevamo cercato di ottenere, mediante le stampe naturali di quest'organo che nei conigli uccisi erano prese immediatamente dopo la morte, delle cifre che potessero essere messe in rapporto col peso del corpo dell'animale. Ottenemmo queste cifre colla moltiplicazione delle tre massime dimensioni della milza in lunghezza, larghezza e grossezza, misurate direttamente in millimetri sulle stampe; e calcolammo il valore di questo parallelepipedo della milza, rapporto ad un chilogrammo del peso del corpo. Noi daremo a questo valore relativo il nome di *Indice della milza*, designandolo colle lettere I. M.

Nei due conigli normali, tutti gli organi dei quali si mostrarono all'autopsia perfettamente sani, e le milze dei quali sono rappresentate nella tav. I, fig. XVII e XVIII, ottenemmo i seguenti valori:

TABELLA I. — *Milza dei conigli normali*.

Numero dell'animale	Peso del corpo in grammi	Diametri della milza in millimetri			Prodotto delle tre dimensioni	I. M.
		Lunghezza	Larghezza	Grossezza		
XVII	1755	38,8	8,2	3,6	1145	—
XVIII	1591	38,7	9,4	3,7	1079	—
Media	1673	38,75	8,8	3,65	1112	664

Immediatamente prima della morte, la temperatura del n. XVII era di 39,0 C. (colla correzione = 39,1°), quella del n. XVIII di 38,6 C. (colla correzione = 38,7°). Questa temperatura però non è da considerarsi come normale, perchè molte volte abbiamo trovato che gli animali novellamente introdotti nel laboratorio avevano una temperatura minore della normale, e soltanto dopo circa 24 ore riacquistavano la temperatura normale e costante. Per determinare la temperatura media normale conviene fare astrazione da queste prime 24 ore, e dedurla da osservazioni ripetute per molti giorni. La tabella seguente mostra le medie ottenute per mezzo di 7 a 9

misurazioni quotidiane, fatte in nove diversi giorni, sopra sei conigli. Prima di calcolare la media venne fatta la correzione dei dati forniti dal termometro, che era, come si è detto, 0,1° C. sotto la normale.

TABELLA II. — *Calcolo della temperatura media rettale nei conigli.*

Numero dell'animale	Data delle osservazioni	Media quotidiana	Numero delle misurazioni quotidiane	Luogo della osservazione
V	30 aprile	39,556 C	9	Roma
»	1 maggio	39,516	»	»
XII	9 »	39,457	7	»
»	10 »	39,483	9	»
»	11 »	39,471	»	»
XV	17 »	39,162	8	»
XVI	» »	39,768	»	»
XIX	8 giugno	39,368	»	Praga
XX	» »	39,475	»	Praga
Media generale = 39,4745°, da 75 misurazioni				

La media temperatura del retto dei conigli va dunque calcolata a 39,4745° C. Forse la media di 39,541° C. che risulterebbe dalle misurazioni dei 30 aprile e 1° maggio, risponde alla temperatura normale delle parti più profonde del retto, stantechè queste misure furono prese col nostro primo termometro, il quale aveva un collo lungo e sottile che facilmente penetrava molto addentro. Crediamo di essere vicini al vero, ammettendo che la temperatura media del retto del coniglio debba essere valutata a 39,5° C., e quindi nelle nostre curve delle temperature (tav. III, IV, V) abbiamo tracciata a questo livello una linea assai marcata che rappresenta questa media normale.

Nell'analisi dei casi patologici crediamo opportuno di formare tre gruppi (II, III e IV) secondo la provenienza delle materie infettanti adoperate (Paludi Pontine, Gianicolo, Valchetta nella campagna di Roma). In un quinto gruppo porremo le ricerche fatte in Praga collo stesso metodo usato in Roma; ed in un sesto i casi di infezione settica accidentalmente prodottasi in alcuni animali, i quali non vennero perciò adoperati nelle nostre ricerche, ma offrirono degli eccellenti mezzi di paragone durante le ricerche sulla infezione malarica, fatte nello stesso luogo e nel medesimo tempo.

II. GRUPPO. *Ricerche con materie infettanti raccolte nelle Paludi Pontine.* Queste ricerche, fatte sugli animali n.° I, II, III, IV, V, servirono a saggiare le materie raccolte nel lago di Caprolace e dall'aria di Ninfa e di Fogliano, le quali vennero adoperate senza alcuna previa preparazione, ovvero dopo essere state coltivate, e delle quali abbiamo già esposta l'analisi microscopica.

A. *Ricerche parallele col fango del Caprolace.* Per queste ricerche furono adoperati i conigli I, e II. Alle 10 ant. del 16 aprile venne iniettato sotto la pelle del n. I, 1,6 Centim. cub. d'acqua che da tre giorni era andata raccogliendosi sul fango del Caprolace, e subito dopo veniva iniettato nella stessa guisa al n. II 0,6 Cent. cub. del liquido contenuto nel tubo di cultura n. 1. In questo tubo, contenente della gelatina purissima, era stata posta l'11 aprile una piccolissima quantità

di fango del Caprolace, e l'estremità rotta per introdurla era stata accuratamente chiusa con cotone. Il tubo era stato tenuto per tre giorni in una stufa alla temperatura di 30° a 34° C., e col suo contenuto era stata riempita la camera ad aria microscopica n. 1, la quale nel medesimo giorno 16 aprile mostrava i bacilli provvisti di spore della fig. 7 c. e fig. 1 f, tav. II.

TABELLA III. — Temperature e pesi dei conigli N. I e II (1)

Giorno	Ora	Temperatura rettale		Peso del corpo		Giorno	Ora	Temperatura rettale		Peso del corpo	
		I	II	I	II			I	II	I	II
15 Aprile	—	—	—	1560 gr.	1801 gr.	20 Aprile	11,40 a.	40,8	39,8	—	—
16 »	10 a.	39,2	39,0 ¹	—	—	» »	2,20 p.	40,5	39,1	—	—
» »	2,30 p.	40,15	39,9	—	—	» »	3 p.	40,5	39,1	—	—
» »	8 p.	39,85	40,2	—	—	» »	6,40 p.	40,7	39,8	—	—
17 »	9,30 a.	39,5	39,7	1443	1684	» »	10 p.	40,3	39,6	—	—
» »	2 p.	38,4	38,9	—	—	21 »	6 a.	40,8	39,7	—	—
18 »	9,10 a.	39,4	39,45	1445	1708	» »	8 a.	40,7	39,7	—	—
» »	3 p.	38,4	39,7	1461	1780	» »	9,15 a.	40,9	—	1387 gr. ²	—
» »	5 p.	39,75	39,7	—	—	» »	11,30 a.	—	39,65	—	—
» »	8,30 p.	39,7	39,5	—	—	» »	7 p.	—	39,8	—	—
19 »	9,15 a.	40,0	39,6	1408	1783	» »	10,45 p.	—	39,8	—	—
» »	11 a.	40,2	39,6	—	—	22 »	6 a.	—	39,8	—	—
» »	2 p.	40,6	40,1	—	—	» »	12,45 p.	—	39,4	—	—
» »	3 p.	40,65	40,05	—	—	» »	1 p.	—	39,9	—	—
» »	4 p.	40,85	40,2	—	—	» »	3 p.	—	39,9	—	—
» »	5 p.	40,8	40,2	—	—	23 »	12 m.	—	39,5	—	—
» »	6 p.	40,5	40,2	—	—	» »	6 p.	—	39,5	—	—
» »	8 p.	40,6	40,6	—	—	24 »	6 a.	—	39,2	—	—
» »	11 p.	40,5	40,3	—	—	» »	12 m.	—	39,6	—	—
20 »	6 a.	40,7	39,6	—	—	» »	6 p.	—	39,8	—	—
» »	8,10 a.	40,6	39,7	—	—	25 »	7 a.	—	39,5	—	—
» »	8,10 a.	40,65	39,8	—	—						

1 Iniezione sottocutanea delle materie sopradescritte in ambedue i conigli. — 2 Il N. 1 è ucciso disanguandolo.

L'autopsia del coniglio n. I, fatta immediatamente dopo la morte, dà i seguenti risultati. Nel luogo della iniezione, sulla destra della regione lombare, si trova una callosità della lunghezza di 4 c. m. e della larghezza di 3,5 c. m. formata da tessuto connettivo biancastro e di apparenza fibrosa, contenente alcuni vasi sanguigni assai ampi e ripieni da trombi duri e di color rosso-bruno. All'intorno il tessuto sottocutaneo è leggermente edematoso. Il liquido dell'edema, raccolto subito per mezzo di tubi capillari, contiene una gran quantità di corpicciuoli semoventi, di forma ovale o rotondeggiante, brillanti, alcuni dei quali mostrano da due opposti lati dei piccoli prolungamenti ottusi. Oltre a ciò si veggono dei filamenti immobili, o dotati di movimenti molto deboli, della lunghezza massima di 5,9001 μ , e della larghezza di 0,7143 μ . Le glandule linfatiche mesenteriche sono molto rigonfiate e contengono una gran quantità di liquido opalino biancastro. La milza è ingrossata: ha 55 mm. in lunghezza, 9 in larghezza e 4 mm. in grossezza. L'esame del tessuto della milza a fresco, fa vedere una gran quantità di pigmento bruno scuro in masse irregolari: aggiungendo al tessuto della milza dell'umore acqueo

(1) Alle cifre delle temperature deve essere aggiunto 0,1° C. in ogni Tabella.

tolto dalla camera anteriore dell'occhio dello stesso coniglio (esaminato prima e trovato perfettamente normale), si vede un numero molto grande di corpicciuoli rotondeggianti che si muovono attivamente.

Negli altri organi del corpo non si osservò alcuna alterazione.

Il tessuto della callosità trovata nel luogo della iniezione era fibroso come quello delle cicatrici, e conteneva una quantità notevole di cellule linfatiche.

Per ben determinare la natura dei corpi rotondeggianti e semoventi trovati nella polpa della milza, molti dei quali si vedevano ancora mescolati alle piccole gocce di grasso del liquido estratto dalle glandule linfatiche, furono preparate due camere ad aria microscopiche (n. 7 e 8) (1). Nella prima fu posto il siero della linfa, nella seconda una piccola quantità di polpa della milza diluita con l'umore acqueo dello stesso animale, e quindi le due camere furono messe in una stufa mantenuta alla temperatura di 30° e 35° C. Prima della preparazione i vetri erano stati riscaldati fino a 120° C. onde uccidere tutti gli esseri viventi che potessero aderirvi. Dopo 24 ore la camera n. 7 conteneva dei filamenti immobili provvisti di granuli brillanti (spore) e dei bastoncelli semoventi talvolta uniti in coppie: oltre a ciò dei corpi ovali liberi, simili a quelli contenuti nei filamenti. La fig. 4, tav. II mostra alcuni di questi corpi, insieme con un filamento contenente due spore terminali, inclusi in un coagulo di linfa nel quale si trova altresì una cellula linfatica. Nella camera n. 8 si erano formati, oltre a molte spore libere, alcuni filamenti con protoplasma omogeneo. Questi, e specialmente i più piccoli, non potevano essere veduti bene se non con obiettivi di eccellente definizione, come il $\frac{1}{12}$ e il $\frac{1}{18}$ di pollice di Zeiss, e la illuminazione fatta coll'apparecchio di Abbé. Più tardi si vedevano bene anche con obiettivi molto più deboli e imperfetti.

In ambedue i conigli che servirono a questa ricerca vediamo dunque essere insorta una febbre di carattere intermittente, in seguito alla iniezione delle sostanze sopradette (tav. III, curve I e II). Dopo la iniezione si verificò subito un aumento di temperatura al di sopra di 40° C.; il giorno seguente la temperatura scese un poco al di sotto della normale; il terzo giorno vi fu un leggero aumento; il quarto giorno un nuovo accesso di febbre nelle ore pomeridiane con aumento della temperatura fino a 40,85° nel n. I, e fino a 40,6° nel n. II. Dopo il quinto giorno il corso della malattia diversifica nei due. Il n. I che aveva avuto iniettato 1,6 cent. cub. dell'acqua uscita dal fango del Caprolace mantiene durante 48 ore una temperatura elevata, con lievi oscillazioni; mentre il n. II che aveva avuto iniettato soltanto 0,6 cent. cub. della cultura fatta collo stesso fango, mostra piccoli aumenti di temperatura nel 5°, 6° e 7° giorno con lievi remissioni quotidiane, all'8° giorno una temperatura normale, ed al 9° giorno una temperatura un poco inferiore alla normale nelle prime ore, ed un lieve aumento nelle ore pomeridiane. Il 10° giorno il n. II fu adoperato per un'altra ricerca. Vediamo quindi la febbre del n. I diventare continua dopo il 2° accesso, e nel n. II succedere al 2° accesso uno stato quasi normale, differenza che corrisponde alla differenza della quantità di materia infettante adoperata.

(1) Noi indichiamo le culture secondo il numero che portano nel nostro protocollo, limitandoci a descrivere soltanto quelle che si riferiscono ai singoli casi di infezione negli animali.

Quanto ai reperti anatomici riscontrati nel n. I, ucciso durante l'accesso febbrile, sono principalmente da notare: 1° la mancanza di suppurazione nel luogo della iniezione; 2° l'aumento di tutte le dimensioni della milza, e specialmente della sua lunghezza (55 millimetri, mentre la media normale è 38,75 mm.) che dà un valore di 1298 all'indice della milza, valore che è quasi il doppio del normale (664); 3° la presenza degli stessi organismi nel liquido iniettato, nel luogo della iniezione, nella milza, e nella linfa. Nè l'andamento della malattia, nè i trovati anatomici, corrispondono a quelli delle febbri putride o settiche. Merita attenzione oltre a ciò l'aumento di peso verificatosi in ambedue gli animali, fra il primo ed il secondo accesso febbrile.

B. *Ricerche parallele col fango del Caprolace e colle materie raccolte nell'aria di Ninfa e di Fogliano.* Queste ricerche dovevano condurci a risolvere la questione se, prima ancora del tempo nel quale le malattie malariche si manifestano, l'agente che le suscita si solleva al di sopra del suolo negli strati più inferiori dell'atmosfera. La brevità del tempo e la quantità di lavoro che in questo breve tempo dovemmo condurre a termine, non ci permisero di studiare partitamente l'azione di ciascheduno dei saggi d'aria raccolti. Non è inverosimile che l'attività maggiore fosse spiegata dal saggio raccolto sulla riva del Lago di Fogliano, dove l'odore di putrescenza era molto sensibile, ciò che, secondo le idee degli abitatori del luogo, accennerebbe ad una maggiore potenza infettiva.

Il 17 aprile vennero istituite delle culture coi saggi d'aria n. 5 e 7 raccolti in Ninfa e sul lago di Fogliano. La colla di pesce colla quale erano state spalmate le placche di vetro era disseccata: se ne pose una porzione insieme con dell'albmina in due camere ad aria microscopiche, un'altra in due tubi contenenti colla di pesce purissima, ed una terza in orina. Questa orina era stata lungamente bollita in un piccolo matraccio che poi era stato chiuso col cotone, e si era mantenuta perfettamente chiara durante 24 ore. Le culture nelle camere ad aria non diedero alcun risultato: dopo 24 ore vi si vedevano alcuni pochi granuli, che non si svilupparono ulteriormente nei 5 giorni seguenti. Nei tubi contenenti colla di pesce si ebbe uno sviluppo di bacilli, ed essi furono riservati per altre ricerche: la cultura in orina fu adoperata subito. L'orina era giallo-pallida, chiara, ed acida: conteneva dei lunghi filamenti immobili, in parte articolati, ed in alcuni articoli si vedevano delle spore. Il 25 aprile si iniettarono 1,6 cent. cubici di questa orina sotto la pelle della regione dorsale al coniglio n. II, e contemporaneamente si iniettarono al coniglio n. III, non ancora adoperato in alcuna ricerca, 3 cent. cub. di acqua stata lungamente sul fango del Caprolace, la quale conteneva dei corpicciuoli di forma ovale ed alcuni filamenti sottili e tortuosi (1). Oltre a ciò furono iniettati ad un altro nuovo coniglio (n. IV) 1,6 cent. cub. del contenuto di un tubo di cultura, nel quale era stata posta il 23 aprile una piccolissima quantità del fango del Caprolace insieme con della colla di pesce, e che era stato sempre tenuto ad una temperatura di 35° a 40°. In quest'ultimo liquido si vedevano soltanto dei piccoli granuli brillanti.

(1) Le osservazioni microscopiche vennero fatte sempre da ambedue gli autori, e registrate da ognuno di essi separatamente nel protocollo.

I risultati sono esposti dalla tabella seguente:

TABELLA IV. — Temperature e pesi dei Conigli N. II, III e IV.

Giorno	Ora	Temperatura			Peso del corpo			Osservazioni
		II	III	IV	II	III	IV	
25 Aprile	7 a.	39,5	—	—				
» »	8 a.	—	38,9	38,5				
» »	9 a.	—	—	—	1686	1546	1824	Iniezione.
» »	10 a.	39,4	39,3	39,1				
» »	12 m.	39,6	39,6	39,2				
» »	2 p.	39,6	39,2	38,8				
» »	4 p.	39,7	39,3	38,7				
» »	6 p.	39,9	39,2	39,0				
» »	8 p.	39,8	39,2	39,2				
» »	10 p.	39,8	39,2	39,2				
26 »	6 a.	39,4	38,9	39,1				
» »	8 a.	39,6	39,4	38,75 2				
» »	10,15 a.	39,4	39,4	39,8				
» »	12 m.	39,35	39,5	38,5				1 Durante i movimenti dell'animale la temperatura era di 39,6.
» »	2 p.	39,5	39,0	38,6				2 Alle 8,30 a. si iniettano al N. IV 3/4 di cent. cub. della medesima cultura.
» »	4 p.	39,6	39,3	39,0				
» »	6 p.	39,7	39,5	39,5	—	—	—	
» »	8 p.	39,5	39,4	39,4				Il N. IV partorisce 6 figli.
» »	10 p.	39,6	39,4	39,4				
27 »	6 a.	39,3	39,2	39,5				
» »	8 a.	39,6	39,3	39,45	1717	1871	1532	Il peso dei figli partoriti dal N. IV era di gr. 262 quello della madre 1532; totale 1794.
» »	10 a.	39,4 3	39,2 4	39,6				3 Si iniettano 3 cent. cub. della cultura in cima del sugello dell'aria di Ninfia e di Bogliano.
» »	12 m.	39,5	40,5	39,65				4 Si iniettano 3 cent. cub. dell'acqua sovrapposta al fango del Caprolace.
» »	2 p.	39,7	40,1	40,05				
» »	4 p.	39,7	40,2	39,9				
» »	6 p.	39,8	40,2	39,6				
» »	8 p.	39,8	39,9	39,8				
» »	10 p.	39,8	39,9	39,9	1838	1615	1530	
28 »	6 a.	39,65	39,3	39,7				
» »	8 a.	39,7	39,4	39,6				
» »	10 a.	39,3	39,25	39,5				
» »	12 m.	39,4	39,3	39,4				
» »	2 p.	39,5	39,45	39,5				
» »	4 p.	39,75	39,4	39,45				
» »	6 p.	39,6	39,4	39,7				
» »	8 p.	39,6	39,5	39,65				
» »	10 p.	39,65	39,25	39,8				
29 »	6 a.	39,4	39,3	40,05				
» »	8 a.	39,6	39,0	41,00				
» »	10 a.	39,5	39,2	39,9				
» »	12 m.	39,6	39,2	40,2				
» »	2 p.	39,4	39,3	40,05				
» »	4 p.	39,6	39,2	40,05				
» »	6 p.	39,95	39,55	40,3				
» »	8 p.	39,8	39,45	41,05				
» »	10 p.	39,8	39,45	41,05				
30 »	6 a.	41,0	39,1	41,0				
» »	8 a.	39,95	39,2	39,8				
» »	10 a.	40,2	39,0	40,2	1749	1668	1632	
» »	12 m.	40,1	39,2	40,4				
» »	2 p.	39,8	39,2	40,2				
» »	4 p.	39,5	39,2	40,2				
» »	6 p.	39,55	39,3	40,15				
» »	8 p.	39,4	39,2	39,9				
» »	10 p.	39,5	39,2	40,1				
1 Maggio	6 a.	39,5	39,2	40,1				
» »	8 a.	39,35	39,4	39,9				
» »	10 a.	39,1	39,5	39,85				

Giorno	Ora	Temperatura			Peso del corpo			Osservazioni
		II	III	IV	II	III	IV	
1 Maggio	12 m.	39,25	39,3	39,95				
» »	2 p.	39,15	36,2	40,05				
» »	4 p.	39,1	39,3	39,9				
» »	6 p.	39,4	39,1	40,0				
» »	8 p.	39,5	39,4	40,1				
» »	10 p.	39,6	39,3	40,0				
2 »	6 a.	39,3	39,4	40,1				
» »	8 a.	39,4	39,1	39,85				
» »	10 a.	39,2	39,3	39,9				
» »	12 m.	39,5	39,2	39,6				
» »	2 p.	39,5	39,2	39,7	1715	1612	1490	
» »	4 p.	39,1	39,3 1	39,9				
» »	6 p.	39,7	—	40,5				
» »	8 p.	39,8	—	39,9				
» »	10 p.	40,0	—	39,95				
3 »	6 a.	39,5	—	2				
» »	12 m.	39,2	—	—				
» »	2 p.	39,85	—	40,0				
» »	4 p.	39,7	—	40,0	1905	—	1585	
» »	6 p.	40,0	—	40,1				
» »	8 p.	40,1	—	39,8				
» »	10 p.	40,0	—	39,9				
4 »	6 a.	39,9	—	40,1				
» »	8 a.	39,5	—	39,9				
» »	12 m.	39,6	—	40,0				
» »	2 p.	40,0	—	40,1				
» »	4 p.	40,1	—	40,0				
» »	6 p.	39,8	—	40,05				
» »	8 p.	39,85	—	40,0				
» »	10 p.	39,7	—	40,0				
5 »	6 a.	39,5	—	40,0				
» »	8 a.	39,7	—	39,8				
» »	12 m.	39,7	—	39,2	1910	—	1529	
» »	2 p.	39,8	—	39,6				
» »	4 p.	39,8	—	—				
» »	6 p.	40,0	—	—				
» »	8 p.	40,1	—	—				
» »	10 p.	40,0	—	—				

1 Al N. III vengono iniettati alle 2.30 pom. 16 cent. cubici del liquido filtrato ottenuto dalla cultura in orina dell'aria di Ninfa e di Fogliano. Vedi la ricerca parallela seguente.
2 Il termometro si rompe. Il nuovo termometro è nell'esso 0,1° C. sotto la normale.

Alle 2.30 p. il coniglio N. IV viene ucciso.

La tabella delle temperature del coniglio n. III verrà continuata più sotto.

Il coniglio n. II venne ucciso il 6 maggio, dissanguandolo. Alle 6 ant. di questo giorno la sua temperatura rettale era di 39,9°, alle 8 ant. di 39,8°, e alle 10 ant. di 39,4°. Il suo peso era di 1602 grammi.

L'autopsia di questo coniglio, al quale era stata iniettata il 25 aprile la cultura in orina del saggio dell'aria di Ninfa e di Fogliano, dà i seguenti risultati. L'animale è ben nutrito (all'11° giorno della osservazione pesava 224 grammi, ed il giorno della morte 116 grammi più del giorno nel quale fu introdotto nel laboratorio); la sua milza è molto ingrossata (tav. I, fig. II), ha una lunghezza di 52,6 mm., una larghezza di 11,5 mm., e una grossezza di 5,8 mm. Il prodotto di queste tre cifre calcolato in rapporto al peso massimo dell'11° giorno, dà un indice della milza = 1832 cioè quasi tre volte maggiore dell'indice normale. L'organo è piuttosto resistente, poco ricco di sangue, di color rosso chiaro, e la sua capsula è aggrinzata, cosicché

certamente la milza aveva raggiunto una grossezza maggiore di quella misurata. Le glandule dell'intestino non sono rigonfiate: invece sono molte rigonfiate le glandule linfatiche del mesenterio, le quali alla radice del mesenterio formano una massa lunga 3 c. m. e larga 1,8 c. m. Queste glandule sono resistenti, biancastre, e contengono molta linfa chiara. Il fegato è ricco di sangue, meno ricchi ne sono i reni. V'è un leggero edema polmonare con ecchimosi della pleura (È a notare che in questo caso la morte fu piuttosto lenta). In uno dei due luoghi dove venne praticata l'iniezione si trovò un piccolo ascesso incapsulato.

La curva delle temperature di questo animale (tav. III, curva II) è molto interessante. Nei primi due giorni dopo la prima iniezione le oscillazioni della temperatura sono piccole (massime 39,9°-39,7°; minime 39,35°-39,3°). Nelle prime 48 ore dopo la seconda iniezione del medesimo liquido di cultura (27 aprile) non si osservano notevoli perturbazioni della temperatura, ma questa comincia ad innalzarsi rapidamente 51 ora dopo la seconda iniezione, arriva in 16 ore a 41° C. (c) e poi ricade rapidamente a 39,4°. Questo accesso ebbe nell'insieme una durata di 24 ore. Nelle 36 ore seguenti si hanno minime temperature di 39,1°-39,2°, e delle massime che appena superano la media normale: ma poi viene una serie di 4 accessi (f, g, h, i) ognuno dei quali dura 24 ore circa, con delle temperature massime di 40°; 40,1°; 40,1°; 40,1°; e delle minime di 39,2°; 39,5°; 39,5°. *Il tipo quartanario della febbre, dopo l'accesso f, si trasformò in un tipo quotidiano.* Il reperto anatomico è tale da escludere una complicazione dovuta all'infezione settica: soprattutto è a notare la consistenza della milza rigonfiata, non che la nessuna alterazione della forma dei suoi spigoli, quale si può verificare nei tagli trasversali (tav. I, fig. II), mentre nelle infezioni settiche la milza è molle ed i suoi spigoli sono arrotondati (tav. I, fig. VI e XI). Fu trovato inoltre in questa milza del pigmento melanemico.

Nella linfa furono trovati molti corpi ovali, brillanti, della lunghezza di 0,00095mm. che si muovevano molto attivamente.

Risulta quindi che l'aria esaminata conteneva dei corpicciuoli capaci di sviluppo i quali, dopo essersi moltiplicati nell'ovina, l'avevano resa atta a produrre degli accessi di febbre intermittente nell'animale infettato con essa.

Per ottenere questo effetto fu necessario adoperare una discreta quantità del liquido di cultura, ed il risultato non si ottenne se non dopo un periodo di latenza della durata di 48 ore. Ciò si spiega facilmente colla gran quantità del liquido (400 cent. cubici circa) nel quale si trovava dispersa la sostanza pesta in cultura. Rimaneva a vedere se l'azione febbrigena era veramente esercitata dalle particelle sospese in questo liquido, o da sostanze disciolte nel medesimo, ed a ciò venne destinata la ricerca parallela successiva.

Il coniglio n. III, al quale era stata iniettata due volte l'acqua che aveva lungamente riposato sul fango del Caprolace (1,6 cent. cub. il 25 aprile, 3,2 cent. cub. il 27 aprile) mostrò due lievi aumenti di temperatura dopo la prima iniezione (tav. III, curva III a. b.) i *maximum* dei quali distano esattamente di 24 ore. La differenza fra i massimi e i minimi di queste temperature è di 0,7° C. Tutto questo tratto di curva è però al di sotto della normale: il primo massimo eccede la normale soltanto di 0,1° C., il secondo vi arriva per l'appunto. Dopo la seconda

minima, la temperatura risale verso la media. Queste oscillazioni sono assai frequenti ad osservarsi nei conigli che da poco tempo sono posti in nuove condizioni di abitazione, di nutrizione ecc., durante quel periodo di abbassamento della temperatura al quale abbiamo accennato più sopra, e non hanno nulla che fare col processo della febbre intermittente. Di ciò si poté avere in questo caso una riprova positiva. Infatti, quando la temperatura era ritornata verso la media normale, si praticò la seconda iniezione con dose doppia del medesimo liquido: si ebbe quasi immediatamente un aumento di temperatura che giunse fino a 40,2° C. ma poi si produsse un abbassamento di temperatura tale, che la curva rimase nei cinque giorni consecutivi al di sotto della media normale, e solo alcune poche volte raggiunse questa media, oltrepassandola una sola volta di 0,1° C. Dopo ciò l'animale fu adoperato per un'altra ricerca. Quindi le due iniezioni riuscirono impotenti a generare una febbre malarica, od in altri termini: *l'acqua che era stata per lungo tempo sovrapposta ad un limo ricco di veleno malarico, non si mostrò atta a trasmettere questo veleno.*

In questo caso non si può ammettere che il risultato negativo fosse dovuto ad una particolare immunità dell'animale, perchè una ricerca ulteriore fatta sul medesimo coniglio prova che questa immunità non esisteva. Quel risultato acquista una grande importanza quando si rifletta che lo sviluppo naturale della malaria manca, anche nei terreni più favorevoli alla sua produzione, quando il suolo è separato dall'atmosfera per mezzo di strati di acqua assai cospicui (V. Capitolo I). Infatti l'acqua del lago di Caprolace si mostrò nelle nostre ricerche interamente spoglia di quegli organismi che poterono essere sviluppati in tanta quantità nella cultura preparata col limo raccolto sulla riva del lago, e per mezzo della quale ottenemmo dei risultati positivi nel coniglio n. II. Quest'acqua era molto ricca di schistomiceti semoventi, ma in nessuna delle culture con essa istituite nella còlla di pesce, nell'albumina, nell'orina, e nemmeno quando venne lasciata a se stessa in bocce chiuse col cotone, si videro mai svilupparsi dei bacilli contenenti nuclei. Invece si svilupparono sempre delle forme analoghe a quelle che uno di noi (Klebs) ha distinte col nome di *Monadine*. Ciò concorre a provare che il Bacillo da noi descritto è un organismo eminentemente *aerobio*, il quale non può prosperare se non in contatto dell'atmosfera: fatto il quale va d'accordo con le condizioni della produzione della malaria da noi enumerate nel I° Capitolo, ed è confermato dai risultati di tutte le nostre culture, nelle quali questa pianta si sviluppava sempre alla superficie del liquido.

Il coniglio n. IV, il terzo di questa serie, nel quale erano stati iniettati 1,6 cent. cub. di una cultura del Bacillo nella còlla di pesce, era un animale affatto simile per conformazione e provenienza al coniglio n. III. Ambedue erano albi, robusti, allevati nello stesso luogo e probabilmente provenivano dal medesimo parto, ed anche durante le ricerche furono da noi sempre tenuti nella medesima stalla. Il n. IV pesava un poco più del n. III. Da principio anch'esso aveva una temperatura minore della normale: nei primi due giorni dopo la iniezione mostrò delle piccole oscillazioni di temperatura, che rimasero però sempre al di sotto della normale. Verso la metà del terzo giorno la temperatura si alzò al di sopra di questa media, e alle due pom. sorpassò il 40° C.; poi discese lentamente fino ad un *minimum* di 39,4 nel giorno

seguito: al quinto giorno si ebbe un forte accesso (temperatura massima 41° C), *cosicchè, come avviene nel tipo terzanario, i due accessi vennero separati da un giorno di completa apiressia*. Ma alla sera del medesimo giorno si ebbe un nuovo aumento di temperatura più forte e più durevole del precedente. Questo secondo accesso durò 8 ore ed il massimo della temperatura giunse a 41,05° C. Nei cinque giorni seguenti si ebbe una temperatura continuamente elevata sui 40° C. con piccoli aumenti verso il mezzogiorno dei 2 e 3 maggio, e brevi intermittenze (temp. minima 39,6°); *cosicchè dopo un forte accesso di 8 ore la febbre si convertì in una subcontinua*. Questa, al 6° giorno, declinò, e la temperatura discese a 39,2°. L'animale venne allora ucciso.

Prima di entrare nei dettagli dell'autopsia, crediamo utile di avvertire un fatto che ci sembra importante. La nostra aspettativa di ottenere dei risultati positivi nei conigli III e IV venne delusa durante i primi giorni delle nostre osservazioni sui medesimi, e quindi il forte accesso che improvvisamente si manifestò il 29 aprile nel n. IV ci sorprese. È a notare che in quel giorno vi furono grandi scosse di pioggia con rapido abbassamento della temperatura atmosferica, e che anche nel n. II, nel quale da tre giorni era stata praticata l'ultima iniezione, si verificò un aumento di temperatura notevole (39,95° C.) al quale tenne dietro subito il forte accesso e (tav. III, curve I, II). Invece i conigli V e VI che non erano stati ancora adoperati in alcuna ricerca, ed il n. III al quale era stata iniettata una sostanza inattiva, mostrarono nello stesso tempo un abbassamento cospicuo della temperatura (n. III 39,0; n. V 38,85°; n. VI 38,9°).

Sembra dunque che gli animali nei quali era stata prodotta una infezione malarica, risentissero l'azione di queste influenze atmosferiche in modo diverso di quelli non infetti. I seguenti dati meteorologici fornitici gentilmente dal Padre Ferrari, Direttore dell'Osservatorio del Collegio Romano, mostrano quali fossero queste influenze.

Giorno	Barometro ridotto al livello del mare	Temperatura		Umidità %	Pioggia in millimetri	Vento
		massima	minima			
25 Aprile	756,6	19,7	9,1	66	3,3	N. SO.
26 »	759,5	19,1	7,0	68	gocce	N. SO.
27 »	758,7	19,2	12,1	69	2,7	SO.SE.NO.
28 »	754,5	16,7	9,7	66	11,3	E. SE. SO.
29 »	754,0	13,2	9,4	88	66,0	N. NE.
30 »	756,8	15,0	8,3	79	8,0	N. NO.
1 Maggio	759,0	17,9	8,3	68	0	N. SO.
2 »	758,8	15,3	7,5	78	6,0	SE.
3 »	755,3	14,5	8,2	80	30,2	SE.
4 »	757,8	16,5	8,0	71	10,0	N. SO.
5 »	760,9	18,0	8,0	83	22,4	N. SO. N.

Vediamo dunque corrispondere al giorno 29 aprile la più bassa temperatura massima, la minor pressione atmosferica, la maggiore umidità, e le più forti piogge. Il giorno 30 la pressione atmosferica cresce, ma la temperatura minima è ancora più bassa. *È dunque verosimile che il raffreddamento dell'aria e l'aumento dell'umidità di essa, abbiano influito alla produzione dei forti accessi febbrili manifestatisi negli animali infetti, e che negli animali non infetti influissero invece a determinare un abbassamento della temperatura.*

Autopsia del coniglio n. IV. L'animale è molto ben nutrito, è cresciuto di peso 63 grammi, dopo il parto del 26 aprile. La milza è molto ingrossata (ta v. I, fig. IV); è lunga 67,3 mm., larga 13,0 mm., grossa 4,3 mm. nelle massime dimensioni. L'indice della milza è = 2460, cioè quasi 4 volte maggiore del normale. L'organo si trova retratto, con capsula molto aggrinzata, ed è povero di sangue: il fegato ed i reni contengono molto sangue e nel resto sono normali. Le glandule mesenteriche sono ingrossate, di colore biancastro, ricche di linfa; le placche di Peyer dell'intestino sono un poco rilevate, grigio-biancastre; la mucosa intestinale è un poco arrossata. L'utero è grande, l'inserzione placentare assottigliata, la mucosa uterina è levigata e rossastra. I polmoni sono grandi, sotto la pleura vi sono alcune ecchimosi. Il cuore è retratto: le vene dell'addome contengono molto sangue fluido.

Nella linfa si trovano moltissimi corpuscoli ovali, brillanti, dotati di movimenti molto attivi, ed anco nella milza se ne trovano, ma in piccolo numero. Col sangue raccolto durante la sezione in tubi capillari preparati sul posto, vennero istituite delle culture microscopiche. In una di queste si trovò il 9 maggio uno sviluppo di filamenti di Bacillo; nelle altre tale sviluppo non si verificò. Nella milza si trovano molte cellule nelle quali sono inclusi dei frammenti di corpuscoli rossi del sangue e molti granuli brillanti. Questa milza contiene molto pigmento bruno ed anche una discreta quantità di pigmento nero, il quale si colora in turchino mediante il trattamento con acido idroclorico e ferrocianuro di potassio.

C. *Ricerche parallele sull'efficacia del liquido ottenuto colla filtrazione della cultura in orina dei saggi d'aria raccolti in Ninfa ed in Fogliano.*

Queste ricerche avevano per iscopo di riconoscere se esistesse una differenza fra l'azione del liquido di cultura non filtrato, e quella esercitata dal medesimo liquido dopo la filtrazione. Delle ragioni per le quali noi abbiamo preferito di fare la separazione delle parti solide dalle fluide del liquido di cultura, con un mezzo puramente meccanico, abbiamo già parlato a pag. 24. Il liquido di cultura mediante il quale era stata già procurata una infezione malarica nel coniglio n. II, venne filtrato per mezzo della pompa di Bunsen a traverso un filtro di gesso. Sedici centimetri cubici del liquido filtrato vennero il 2 maggio iniettati sotto la pelle del dorso (in punti diversi) al coniglio n. III, il quale dal 29 aprile in poi aveva sempre avuta una temperatura normale, ed il quale poteva credersi più predisposto a risentire gli effetti di una sostanza infettante, per le ricerche alle quali aveva servito antecedentemente. Al coniglio n. V, non ancora adoperato in alcuna ricerca, vennero iniettati soltanto 3,2 centimetri cubici del liquido rimasto sul filtro.

TABELLA V. — Temperature e pesi dei conigli N. III e V.

Giorno	Ora	Temperature e pesi		Differenze delle temperature del N. V. da quello del N. III	Giorno	Ora	Temperature e pesi		Differenze della temperatura del N. V. da quelle del N. III
		III	V				III	V	
2 Maggio	6 a.	39,4	39,7	+ 0,3	6 Maggio	8 p.	39,8	41,1	+ 0,3
» »	8 a.	39,1	39,6	+ 0,5	» »	10 p.	39,5	40,8	+ 0,5
» »	10 a.	39,3	39,5	+ 0,2	7 »	6 a.	39,55	39,8	+ 0,25
» »	12 m.	39,2	39,6	+ 0,4	» »	8 a.	39,7	39,9	+ 0,2
» »	2 p.	39,2	39,5	+ 0,3	» »	10 a.	39,5	39,9	+ 0,4
		pesi 1612 gr. 1798 gr.			» »	12 m.	39,3	39,8	+ 0,5
» »	4 p.	39,3	39,4	+ 0,1	» »	2 p.	39,4	40,1	+ 0,7
» »	6 p.	39,8	40,0	+ 0,2	» »	4 p.	39,7	40,1	+ 0,4
» »	8 p.	40,1	40,42	+ 0,32	» »	6 p.	40,9	40,2	+ 0,2
» »	10 p.	40,25	40,2	- 0,05	» »	8 p.	39,7	40,1	+ 0,4
» »	12 p.	40,2	39,9	- 0,3	» »	10 p.	39,8	40,0	+ 0,2
3 »	12 m.	39,1	40,4	+ 1,3	8 »	6 a.	39,3	40,0	+ 0,7
» »	2 p.	39,5	40,2	+ 0,7	» »	8 a.	39,65	39,9	+ 0,25
» »	4 p.	39,35	40,2	+ 0,85	» »	10 a.	39,3	39,85	+ 0,55
» »	6 p.	39,7	40,3	+ 0,6	» »	12 m.	39,4	39,9	+ 0,5
» »	8 p.	39,8	40,3	+ 0,5	» »	2 p.	39,2	40,0	+ 0,8
» »	10 p.	39,6	40,1	+ 0,5	» »	4 p.	39,5	40,1	+ 0,55
4 »	6 a.	39,5	40,0	+ 0,5	» »	6 p.	39,6	40,3	+ 0,7
» »	8 a.	39,65	39,85	+ 0,2	» »	8 p.	39,5	40,0	+ 0,5
» »	12 m.	39,7	39,6	- 0,1	» »	10 p.	39,4	39,9	+ 0,5
» »	2 p.	39,8	39,5	- 0,2	9 »	6 a.	39,4	39,8	+ 0,4
» »	4 p.	39,5	40,0	+ 0,5	» »	8 a.	39,2	39,7	+ 0,5
» »	6 p.	39,4	40,0	+ 0,6	» »	10 a.	39,2	39,9	+ 0,7
» »	8 p.	39,6	40,05	+ 0,45	» »	2 p.	39,5	40,0	+ 0,5
» »	10 p.	39,55	39,95	+ 0,4	» »	4 p.	—	40,0	
5 »	6 a.	39,2	39,9	+ 0,7	» »	6 p.	39,7	39,9	+ 0,2
» »	8 a.	40,0	39,85	- 0,15	» »	8 p.	39,6	39,95	+ 0,35
» »	11 a. pesi	1657 gr. 1767 gr.			» »	10 p.	39,65	40,0	+ 0,35
» »	12 m.	39,35	39,9	+ 0,55	10 »	6 a.	39,3	39,9	+ 0,6
» »	2 p.	39,7	39,8	+ 0,1	» »	8 a.	39,6	39,9	+ 0,3
» »	4 p.	39,6	40,0	+ 0,4	» »	10 a.	39,6	39,85	+ 0,25
» »	6 p.	39,7	40,5	+ 0,8	» »	12 m.	39,5	39,9	+ 0,4
» »	8 p.	39,8	40,4	+ 0,6	» »	2 p.	39,4	40,0	+ 0,6
» »	10 p.	39,7	40,1	+ 0,4	» »	4 p.	39,6	40,05	+ 0,45
6 »	6 a.	39,3	39,6	+ 0,3	» »	6 p.	39,7	40,0	+ 0,3
» »	8 a.	39,7	39,8	+ 0,1	» »	8 p.	39,8	39,9	+ 0,1
» »	10 a.	39,1	39,7	+ 0,6	» »	10 p.	39,6	39,85	+ 0,25
» »	12 m.	39,3	39,9	+ 0,6	11 »	6 a.	39,5	39,9	+ 0,4
» »	2 p.	39,4	40,0	+ 0,6	» »	8 a.	39,4	39,7	+ 0,3
» »	4 p.	39,6	40,15	+ 0,55	» »	10 a. pesi	1759 gr.	1807 gr. ²	
» »	6 p.	39,7	40,1	+ 0,4					

1 Si pratica la iniezione in ambedue. — 2 Vengono uccisi ambedue.

I risultati delle autopsie sono identici a quelli dei casi esposti più sopra. Non si trova alcuna suppurazione nei luoghi dell'iniezione, nemmeno nel n. III, il quale ebbe iniettate quantità assai ragguardevoli di liquido. Le glandule mesenteriche superiori sono rigonfie. Le milze sono ambedue ingrossate (tav. I, fig. III e V), ma in proporzioni diverse nei due conigli, come si rileva dal seguente quadro:

	Lunghezza	Larghezza	Groschezza	Peso del corpo	Indice della milza
n. III.	51mm.	11,8	4,2	1757	1410
n. V.	56mm.	11,2	5,6	1807	1943.

Inoltre, mentre la milza del n. III non contiene pigmento se non in forma di piccoli granuli color di ruggine, inclusi in uno scarso numero di cellule bianche che si trovano sparse a grandi distanze fra loro nel tessuto della milza, quella del n. V è ricchissima di pigmento. La massima parte di questo pigmento è di color di nickelio e si trova in forma di granuli inclusi nelle cellule bianche, od in forma di zolle assai voluminose; ovvero ha sostituita l'emoglobina nei globuli rossi del sangue. Alcuni di questi hanno conservate le loro dimensioni, la loro omogeneità, e la loro forma discoide, ma la emoglobina vi si trova interamente rimpiazzata da questo pigmento. Oltre al pigmento color di nickel, si incontra in questa milza una certa quantità di pigmento nero, per lo più in forma di piccoli granuli inclusi nelle cellule bianche.

Questi risultati anatomici, e le curve delle temperature (tav. III, curve n.° III e n.° I) provano che in ambedue i casi fu prodotta una infezione malarica, ma che essa ebbe una intensità molto minore quando venne suscitata dal liquido filtrato, sebbene questo fosse stato impiegato in dose cinque volte maggiore del liquido non filtrato, e sebbene il coniglio n. III, a differenza del n. V, fosse già indebolito dal trattamento al quale era stato sottoposto nelle ricerche anteriori.

Il tipo della febbre nel n. V è quello di una quotidiana, con una intensità maggiore del 1°, 4° e 7° accesso, cosicchè si potrebbe credere ad una combinazione di una quartana con una quotidiana. La curva delle temperature è in generale 0,5°C. al di sopra della media. Nel n. III invece la posizione generale della curva corrisponde alla media normale, ma le oscillazioni intorno a questa media non sono tali da corrispondere a un tipo regolare di quotidiana. Le massime elevazioni di temperatura rispondono a tre brevi accessi, i quali sono divisi da intervalli di 48 ore e quindi accennerebbero al tipo della quartana, ma il quarto accesso (temperatura 39,8°C.) è postposto, e non ha luogo se non a distanza di 60 ore dal terzo.

Senza volere accordare un valore eccessivo alle distinzioni molteplici che si sono fatte delle varie forme, semplici e composte, delle febbri intermittenti, riteniamo assai verosimile che la grande varietà dei tipi d'intermittenza dipenda da corrispondenti varietà nello sviluppo dell'agente infettante, e quindi abbia importanza nella diagnosi. Probabilmente le misurazioni esatte della temperatura, fatte anche sull'uomo ad intervalli di tempo molto brevi, condurranno ad aumentare il numero di queste varietà.

Nel caso del n. V, la gravità della infezione prodottasi è attestata dalla elevazione uniforme della temperatura media del corpo, e dalle alterazioni trovate nella milza. Ciò nonostante non si era verificata una perdita di peso, ma anzi un aumento di 9 grammi. Nel n. III il peso era cresciuto nello stesso periodo di tempo di 147 grammi; la qual differenza è una nuova riprova della diversa efficacia morbigena dei due liquidi impiegati.

Questa ricerca ci mette in grado di concludere che, mediante l'allontanamento delle parti solide contenute in un liquido infettante, questo liquido perde una gran parte della sua potenza morbigena e genera una febbre tipica molto debole. Rimane indeciso se nel caso nostro la separazione fosse completa od incompleta; ma, in ogni modo, il fatto viene in appoggio di quanto si era riconosciuto per mezzo delle culture: cioè che *le particelle solide capaci di sviluppo sono i portatori del virus*. Però

non si può escludere ancora in modo assoluto che il liquido nel quale questi organismi sono sospesi, e nel quale si trovano i prodotti del loro ricambio materiale, concorra all'azione morbigena che essi indubitatamente esercitano. Un risultato analogo si ottenne per mezzo di due ricerche consimili fatte sui conigli n. XV e XVI, e sui conigli n. VIII e XII.

D. *Ricerche parallele col Bacillo della malaria coltivato in vaso aperto ed in vaso chiuso.* Il 23 aprile si posero in due tubi, nei quali della còlla di pesce era stata chiusa alla lampada appena preparata nella pentola di Papin, due minutissime porzioni del limo raccolto sulla riva del Caprolace. Uno dei tubi fu richiuso subito alla lampada: l'altro fu tappato con molta cura con del cotone che era stato prima esposto ad un'alta temperatura. Ambedue i tubi furono tenuti in una stufa alla temperatura di 30° a 35° C. Il 5 maggio si vedeva alla superficie del liquido contenuto nel tubo lasciato aperto, uno strato biancastro più grosso di quello che appariva nel tubo chiuso. L'osservazione microscopica mostrò nella prima cultura dei bastoncelli immobili, ed altri che oscillavano lentamente; nei primi si vedevano delle serie di nuclei brillanti che mancavano nei secondi, oltre a ciò si vedevano molte spore ovali libere. Nella cultura in tubo chiuso si vedevano pure bastoncelli e filamenti immobili, con spore. I due tubi vennero richiusi come prima, ed il 9 maggio il contenuto di essi venne adoperato in due ricerche parallele.

Verso le 10 ant. del 9 maggio vennero iniettati 1,04 cent. cub. della cultura in vaso aperto al coniglio n. IX, e 3,2 cent. cub. della cultura in vaso chiuso al coniglio n. X. Il n. IX ebbe da principio un forte accesso febbrile della durata di 24 ore, con due temperature massime di 40,3° e 40,2°, ed una temperatura minima interposta di 39,95° (tav. IV, curva A). Nei giorni 11, 12 e 13 la temperatura fu normale con oscillazioni piuttosto sensibili: il 14 comparve un accesso febbrile che durò quasi 48 ore, e nel quale si osservarono tre notevoli innalzamenti della temperatura, separati da tre diminuzioni transitorie, durante le quali la temperatura rimase sempre superiore alla normale (curva IX a, b, c). Il 16 maggio, alle 6 del mattino, la temperatura era ancora di 40° C., ma alle 10 ant. era già discesa a 39,2°, cioè al di sotto della normale. Nei tre giorni successivi la temperatura fu normale od anco inferiore alla normale: alle 6 pom. del giorno 20 la temperatura si alzò fino al 39,8 C. Non potemmo osservare l'animale ulteriormente, perchè obbligati a chiudere la serie dei nostri lavori in Roma. La mattina del 20 questo animale partorì due figli immaturi.

La curva delle temperature del coniglio n. X, il quale aveva avuta iniettata una quantità tre volte maggiore della cultura in vaso chiuso, mostra una grande somiglianza colla curva precedente (tav. IV, curva A). Il primo accesso febbrile comparisce anche qui dopo l'iniezione e presenta due massime temperature come nel caso del n. IX, ma queste due massime sono più ravvicinate fra loro. Nei tre giorni seguenti la temperatura si abbassa, ma rimane sempre un poco al di sopra della normale. Alle 6 ant. del 13 maggio la temperatura era di 40,05°, ciò che fa supporre che essa già avesse ricominciato ad aumentare nella notte. Questo secondo accesso cominciò un giorno prima che nel n. IX, dura tre giorni, e presenta quattro principali fasi di recrudescenza e di remissione (curva X a, b², c, d): le massime

e le minime sono un poco meno elevate che nel n. IX. Nei cinque giorni seguenti la temperatura rimane un poco superiore alla media, ed al quinto giorno ridiviene normale.

Si vede dunque come nel n. X, sebbene la quantità del materiale iniettato fosse tanto maggiore di quella adoperata nel n. IX, il primo accesso febbrile avesse minore durata, ed il secondo (che per rapporto al primo apparterebbe al tipo quartanario) rappresentasse una subcontinua di minore intensità e di maggior durata della subcontinua osservata nel n. IX. È probabile quindi che l'azione infettante della cultura in vaso chiuso fosse minore di quella esercitata dalla cultura in vaso aperto, ed è a supporre che questa differenza sarebbe più sensibile, se nel vaso della cultura non fosse rimasta inclusa una notevole quantità di aria. Infatti nelle culture istituite escludendo interamente l'aria, lo sviluppo del Bacillo veniva sospeso, e perciò esse non poterono essere adoperate nelle ricerche dirette a riconoscere la potenza infettiva di questa pianta.

La tabella dei pesi di questi due animali dimostra come essi, dopo l'iniezione e dopo il primo accesso febbrile, crescessero di peso, e come questo aumento di peso si mantenesse nel n. X fino alla morte. Nel coniglio IX dopo il secondo accesso febbrile si ebbe una diminuzione del peso, la quale errebbe ancora di più dopo l'aborto.

	IX	X
8 maggio	1902 gr.	1819 gr.
9 id.	1818 »	1715 » iniezione.
16 id.	1893 »	1796 » dopo il secondo accesso febbrile.
17 id.	1775 »	1813 »
18 id.	1777 »	— »
20 id.	— »	— » il n. IX abortisce. I due aborti pesano 65 grammi.
21 id.	1596 »	1847 »

Ambedue gli animali furono uccisi il 21. La milza del n. IX era mediocremente ingrandita, consistente e di colore oscuro: quella del n. X più voluminosa, di colore più chiaro ed un poco molle. In ambedue si trovò un leggero edema polmonale accompagnato nel n. X da piccoli stravasi intraalveolari. Le dimensioni delle milze erano le seguenti (tav. I, fig. IX e X).

	Lunghezza	Larghezza	Groschezza	Indice della milza
n. IX.	46,0 mm.	10,8 mm.	3,0 mm.	934
n. X.	60,8 mm.	13,7 mm.	6,1 mm.	2754.

Si trovò una mediocre quantità di pigmento rosso-bruno e nero, in granuli ed anco in masse più voluminose, nella milza di ambedue i conigli. Essa era un poco minore nel n. X.

Queste due ricerche provano che i bacilli sviluppatisi nelle culture istituite colla gelatina di pesce produssero febbri intermittenti, ma non permettono di stabilire una differenza decisa fra l'azione dei bacilli coltivati in vaso aperto e quella dei bacilli sviluppatisi in vaso chiuso.

III. GRUPPO. *Ricerche con saggi di terreni del Gianicolo.* Il dott. Fleischl, medico esercente in Roma, ebbe la gentilezza di avvertirci che il sig. W. proprietario

della villa Spada sul Gianicolo, era stato attaccato da una grave febbre di malaria, in un'epoca nella quale simili forme morbose non si erano ancora manifestate in Roma. Questa malattia era insorta in seguito a grandi movimenti di terra fatti nel terreno adiacente alla villa, alcuni dei quali in immediata vicinanza della camera dove il proprietario dormiva, posta al piano terreno della casa. Gli sterri erano stati praticati tanto in un terreno ricco di *humus* che per molto tempo aveva servito da giardino, quanto in un terreno argilloso situato più in basso, dove si faceva una piantagione di aranci. Il 2 maggio portammo nel laboratorio dei saggi dell'una e dell'altra specie di terreno, presi al di sotto degli strati più superficiali, e con essi si fecero degli acquitrini artificiali, nel modo che abbiamo descritto nel Capitolo II. La temperatura delle terre di questi acquitrini posti nel bagno d'aria fu mantenuta fra i 35° e i 36° C. Nell'acqua mescolata a queste terre si vedevano moltissimi corpiccioli ovali semoventi del diametro massimo di 0,00095 mm., alcuni dei quali erano riuniti a due e a tre, in serie che avevano un movimento oscillatorio. Nei saggi comparativi fatti colla terra presa nel nuovo Orto botanico del Viminale, si vedevano gli stessi corpi ovali ma in scarsissimo numero, e mai riuniti in serie.

Il 6 maggio, a due conigli non ancora adoperati in alcuna ricerca (n. VII e VIII) vennero iniettati sotto la pelle del dorso i liquidi ottenuti, mescolando dell'acqua alle terre dei due acquitrini artificiali. Al n. VII vennero iniettati 6,4 cent. cubici del liquido ottenuto dalla terra argillosa, ed al n. VIII la stessa quantità del liquido ottenuto dalla terra ricca di *humus*.

Le due curve VII e VIII della tav. III mostrano le variazioni della temperatura in questi due conigli. Il n. VII nel corso dei primi otto giorni ebbe quattro accessi di febbre, con temperature massime sempre crescenti (1.° accesso 39,9°; 2.° 39,8°; 3.° 40,3°; 4.° 40,3°, 40,1°, 40,3°): anche durante le intermittenze la temperatura andò progressivamente crescendo. Nei sei giorni successivi la febbre assunse il tipo quotidiano, e la temperatura massima degli accessi febrili crebbe progressivamente fino a 41,1° C.

Il n. VIII, dal 6 al 16 maggio, giorno nel quale fu adoperato in un'altra ricerca, mostrò aumenti di temperatura molto meno considerevoli. Le massime temperature infatti oscillano fra 39,9° e 40,05°: le due prime distano fra loro di sole 24 ore, le altre di 48 ore.

I pesi dei due animali variarono nel modo seguente:

	VII	VIII	Osservazioni
6 maggio	2429 gr.	1838	Si praticano le iniezioni.
14 id.	—	—	Il n. VII partorisce 7 figli, che non furono pesati.
16 id.	2092 »	1898	
17 id.	—	1878	
19 id.	—	—	Il n. VIII partorisce nella notte 5 figli del peso di 214 grammi.
20 id.	1965 »	1719	
		+ 214	
		1933 gr.	

I due animali furono uccisi la mattina del 20. All'autopsia la milza del n. VII si trovò molto ingrossata (lung. 56,3, largh. 12,8, gross. 3,5mm. Indice della milza 1289); essa aveva colore più scuro e consistenza minore della normale, e conteneva una piccola quantità di pigmento nero. Nella pleura vi erano molte ecchimosi, e nelle parti superiori (posteriori nell'uomo) dei polmoni, si trovò un'iperemia diffusa e dell'edema. Il cuore destro era ripieno di sangue fluido; nei luoghi dell'iniezione i tessuti erano normali.

Il n. VIII aveva una milza meno ingrossata, sebbene dal 16 al 20 maggio avesse sofferto di una febbre malarica proeuratagli per mezzo di un'altra ricerca, (lung. 49,0mm. largh. 11,0, gross. 3,0mm. Indice della milza 837); l'organo aveva colore e consistenza normali, e conteneva pochissimi granuli di pigmento nero, ed una discreta quantità di pigmento rosso-scuro. Si trovò un liquido sanguinolento nelle cavità pleuratiche; nei polmoni v'erano delle atelektasie parziali con un leggero enfisema dell'orlo inferiore (anteriore nell'uomo). Nessuna alterazione venne riscontrata nei luoghi dell'iniezione.

I risultati ottenuti in questi due animali accennerebbero ad una grande diversità di sviluppo dell'agente dell'infezione malarica nel terreno vergine, e nel terreno che ha lungamente servito ad una cultura di giardino. Parrebbe che in quest'ultimo un tale sviluppo fosse ridotto a minime proporzioni; ma una sola ricerca, fatta coi materiali tolti soltanto da una località malarica, non giustificerebbe certamente una simile conclusione.

IV. GRUPPO. *Ricerche con saggi dei terreni dell'Agro romano.* Le terre adoperate per questo gruppo di ricerche furono tutte raccolte nella tenuta della *Valchetta*, appartenente al cav. Francesco Piacentini. Il primo saggio fu tolto da un acquitrino situato sopra una delle due colline, che nella tav. II del lavoro pubblicato da uno di noi sulle acque dell'Agro romano sono tagliate dalla linea *C.D* (1) e delle quali si vede lo spaccato nella fig. 2 della tav. III annessa alla medesima Memoria. Questo acquitrino si trovava ad un livello inferiore di 15 metri alla cima della più alta delle due colline. Il secondo saggio fu preso da un acquitrino prossimo al Casale della Valchetta, ed il terzo da un terreno pascolivo che era stato recentemente arato nella Valle del Cremera (Fosso della Valchetta). Questi tre saggi furono da noi raccolti il 9 maggio; il 17 maggio ricevemmo dal cav. Alessandro Piacentini un quarto saggio preso da un terreno della Valle del Cremera, coltivato a carciofi.

Coi tre primi saggi furono preparati tre acquitrini artificiali per mezzo di cassette di latta a pareti bucherellate, nel modo che abbiamo descritto nel Capitolo II, e questi mantenemmo nel bagno d'aria ad una temperatura di 30° a 35° C.

Dopo tre giorni (14 maggio) istituimmo una prima ricerca colla terra tolta all'acquitrino del Casale della Valchetta. Una porzione di questa terra fu mescolata ad un ugual volume di acqua Marcia, e dopo che le particelle più pesanti si furono depositate, iniettammo 6,4 cent. cubici del liquido sotto la pelle del dorso del coniglio n. XII. Questo animale era stato tenuto in osservazione durante sei giorni ed

(1) Tommasi-Crudeli, Memoria citata.

aveva sempre mostrata una temperatura un poco inferiore alla normale, fuorchè nel giorno 13, tav. V, curva *XII*). Dopo la iniezione, la temperatura salì a 39,8°, ma poi discese di nuovo sotto la media: il 15, verso mezzogiorno, risalì a 39,9° per ridiscendere di nuovo sotto la media fino a 38,6°. I due piccoli e brevi inalzamenti di temperatura verificatisi in questo coniglio non potevano essere considerati come un effetto della iniezione, perchè esso il giorno prima dell'iniezione ne aveva mostrato uno perfettamente uguale; quindi lo adoperammo in un'altra ricerca.

Colla terra dell'acquitrino posto sull'alto della collina furono istituite due ricerche parallele. Il liquido della iniezione fu preparato nello stesso modo usato nella ricerca precedente, e poi il 16 maggio ne vennero iniettati 6,4 cent. cubici sotto la pelle del coniglio n. XII. Si filtrò quindi questo liquido a traverso un doppio filtro di carta svedese, e si iniettarono 6,4 cent. cubici del filtrato al coniglio n. VIII, già adoperato nelle ricerche fatte colle terre del Gianicolo.

Poco dopo l'iniezione, la temperatura del n. VIII crebbe fino a 40,2°, ma poi discese al di sotto della media, ed oscillò intorno a questa, fino al giorno dipoi (17 maggio). Alle 10 ant. di questo giorno si praticò una seconda iniezione del liquido filtrato in egual quantità, e soltanto il giorno dopo (18) si produsse un aumento di temperatura fino a 40° che durò poco, e non si rinnovò se non nelle ore pomeridiane del 19 (tav. III, curva *VIII*). La mattina del 20, l'animale venne ucciso (*). Il liquido filtrato aveva prodotta in esso una febbre intermittente, con temperature massime poco elevate: nell'ultima intermittenza osservata, la temperatura fu, durante 24 ore, inferiore alla normale.

Il n. XII, al quale erano state iniettate contemporaneamente uguali quantità del medesimo liquido non filtrato, ebbe nelle 36 ore successive tre accessi febbrili, con temperature massime e minime sempre più elevate (tav. V, curva *XII*). Il terzo accesso ebbe luogo nelle ore pomeridiane del giorno 17: in esso furono osservate due temperature massime di 40,8° e di 40,6°, dopo le quali la temperatura diminuì rapidamente, e nell'ultima osservazione fatta (10 pom.) si trovò di soli 39,4°. Nella notte del 17 l'animale morì. Dal 16 al 17 esso aveva perduto in peso 166 grammi nel corso di 24 ore: la mattina del 16, verso mezzogiorno, l'animale aveva partorito un prodotto immaturo del peso di 30 grammi circa.

La mattina del 18 il cadavere era già un poco irrigidito, la temperatura delle cavità del corpo era ancora elevata, il sangue era coagulato entro i vasi: dall'apertura della vagina sporgeva un altro aborto. Nei luoghi dell'iniezione v'era una suppurazione: in mezzo alle cellule del pus si trovò una gran quantità dei soliti corpi ovali semoventi (spore) ed oltre a ciò molti filamenti del *Bacillus malariae*, alcuni dei quali assai lunghi; ve n'erano degli articolati che contenevano spore.

La milza era molto ingrossata (tav. I, fig. *XII*). Essa aveva raggiunto delle dimensioni mai vedute da noi in queste infezioni malariche: lunghezza 81,8mm. largh. 19,4, gross. 6,9mm. Indice della milza = 5903, cioè quasi otto volte maggiore dell'indice normale = 664. L'organo era piuttosto molle, mai i suoi orli e spigoli non erano arrotondati, la sezione trasversale era triangolare, il colore

(*) I risultati dell'autopsia del n. VIII sono riportati a pag. 47.

ardesiaco. Nella polpa splenicà esaminata a fresco si vedevano molte spore ovali semoventi, dei bacilli della lunghez. di 0,001 — 0,002mm. ed anco dei filamenti più lunghi, omogenei. Molte cellule della milza contenevano granuli di pigmento nero. Anche il midollo delle ossa conteneva molte spore semoventi e dei bacilli. Oltre a ciò vi si trovarono dei filamenti lunghi ed omogenei della larghezza di 0,0006mm. e di una lunghezza media di 0,06mm.: alcuni di essi raggiungevano una lunghezza di 0,084mm. Tutte queste preparazioni vennero fatte con una soluzione di 0,75% di cloruro di sodio in acqua distillata, preparata appositamente, e nella quale un attento esame microscopico non fece vedere alcuna traccia di organismi. Del resto, anche senza alcuna aggiunta di altro liquido, si poterono osservare questi filamenti tanto nel midollo delle ossa, quanto nella milza. Il prof. Bizzozzero, che in quel tempo si trovava in Roma, ci aiutò amichevolmente in queste osservazioni e misurazioni.

I reni erano assai grossi, specialmente il sinistro. La faccia superiore di essi confinava col limite inferiore dei focolai infiammatori prodottisi nei luoghi delle iniezioni. Il fegato era di colore oscuro ed assai grosso. L'utero conteneva ancora 4 prodotti immaturi. Il cuore destro era ripieno di sangue aggrumato. Ambedue i polmoni erano edematosi, con iperemie diffuse ed alcune ecchimosi recenti.

Vediamo dunque in questo caso insorgere, dietro l'azione di un liquido preparato colla terra di un acquitrino di collina (il quale dopo la filtrazione aveva prodotta nel n. VIII una infezione molto debole), una vera febbre pernicioso, che necesse l'animale in 36 ore, e nel corso della quale il *Bacillus malariae*, diffusosi nell'interno del corpo, si accumulò nella milza e nel midollo delle ossa, dove raggiunse uno sviluppo assai avanzato (1).

I dubbi che in questo caso potrebbero esistere sulla natura del processo febbrile, per la complicazione verificatasi di una suppurazione nei tessuti del dorso, verranno dileguati dallo studio del caso seguente, nel quale la infezione malarica prodotta dal medesimo materiale decorse senza complicazioni di sorta. È probabile che quella complicazione fosse dovuta all'iniezione fatta il giorno 14 col liquido preparato mediante la terra raccolta nell'acquitrino del Casale della Valchetta, la quale contiene molte materie escrementizie animali, e facilmente poteva suscitare una infiammazione suppurativa.

Un liquido preparato nella medesima maniera, colla terra proveniente dall'acquitrino della collina della Valchetta, non filtrato, venne iniettato in quantità di 6,4 cent. cubici sotto la pelle del dorso al coniglio n. XIII, la mattina del 14 maggio alle 8 ant. Questo coniglio era stato tenuto tre giorni in osservazione nel laboratorio, e non aveva servito ad alcun'altra ricerca. Stante l'importanza del caso, crediamo utile di aggiungere alla curva delle temperature misurate (tav. V, curva XIII) la tabella di tutte le cifre.

(1) È importante osservare che le infezioni malariche più gravi (quelle dei n.º XII, XIII e XIV) vennero prodotte dalle terre che da tre giorni avevano subito un trattamento il quale, come abbiamo detto a pag. 23, *impedisce lo sviluppo delle Alghie*, e lo arresta fin dai primi momenti anche nei fanghi palustri dov'era più rigoglioso. Questo fatto va posto a riscontro di quanto abbiamo detto nel Cap. I sulle osservazioni di Salisbury e di Balestra.

TABELLA VI. — *Temperature e pesi del coniglio N. XIII.*

Giorno	Ora	Temperatura	Peso	Giorno	Ora	Temperatura	Peso	Osservazioni
12 Maggio	4 p.	39,5	1567 gr.	13 Maggio	10 p.	39,65	1481 gr.	Si fa l'iniezione nel nodo sopraddetto.
»	6 p.	39,35		14 »	6 a.	39,6		
»	8 p.	39,3		»	»	»		
»	10 p.	39,2		»	8 a.	39,5		
13 »	6 a.	39,3		»	10 a.	40,5		
»	8 a.	39,7		»	12 m.	40,1		
»	10 a.	39,3		»	2 p.	41,1		
»	12 m.	39,5		»	4 p.	41,5		
»	2 p.	39,9		»	6 p.	41,2		
»	4 p.	39,7		»	8 p.	41,15		
»	6 p.	39,3		15 »	10 p.	41,2		
»	8 p.	39,8		»	6 a.	37,1		
					»	8 a.		

L'autopsia venne fatta immediatamente. Si trovò la milza molto ingrandita, molle, di colore oscuro (tav. I, fig. XIII) essa presentava le seguenti dimensioni: lunghezza 58,0mm., largh. 14,3, gross. 4,8mm. Essendoci dimenticati di pesare l'animale prima di sezionarlo, l'indice della milza va calcolato in rapporto al peso dell'animale avanti l'accesso febbrile. Questo valore è di 2124: quindi era divenuto 3,2 volte maggiore del normale. in sole 24 ore.

La polpa della milza esaminata a fresco, conteneva granuli e masse irregolari di pigmento bruno e nero, moltissime spore ovali semoventi, dei bacilli e dei lunghi filamenti omogenei della largh. di 0,0006mm. e della lungh. media di 0,07mm.

Nel midollo delle ossa c'erano molti corpuscoli ovali, alcuni dei quali inclusi nelle grandi cellule bianche del midollo; alcuni dei liberi erano doppi.

Alcuni di questi corpi semoventi si incontrarono nel sangue della vena porta e della vena cava inferiore. Nella linfa delle glandule mesenteriche superiori si trovarono moltissime spore ovali, e dei bacilli in quantità.

Negli altri organi del corpo non fu trovata alcuna alterazione.

La gravità di questo caso nel quale si produsse, senza alcuna complicazione, una perniciosa anche più intensa di quella che uccise il coniglio n. XII, e con gli stessi risultati necroscopici, rende molto interessante il paragone di esso col caso del n. VIII. In quest'ultimo animale la medesima sostanza infettante venne iniettata in quantità uguale a quella iniettata al n. XII, ed in quantità doppia di quella adoperata nel n. XIII, ma il liquido della iniezione era stato filtrato a traverso della carta da filtro svedese. Questa semplice ed incompleta filtrazione bastò per ridurre la potenza morbigena di questo liquido, dalle proporzioni che ebbe nei casi dei n. XII e XIII, alle tenui proporzioni dimostrate dal corso della febbre e dai reperti anatomici osservati nel n. VIII.

Il terzo saggio di terra, quello tolto dal campo recentemente arato nella Valle del Cremera, proveniva da un suolo non acquitrinoso, ma che in seguito all'aratura era stato esposto all'azione dell'aria atmosferica molto più dei terreni dai quali erano stati tolti i due saggi precedenti. Questa circostanza faceva supporre che lo

sviluppo della malaria avesse anche qui raggiunte grandi proporzioni, e questa supposizione venne confermata dai risultati della ricerca seguente.

Al coniglio n. XIV, non adoperato in alcun'altra ricerca, e del quale la temperatura normale era stata misurata durante due interi giorni, vennero iniettati sotto la pelle del dorso, alle 10 ant. del 14 maggio, 6,4 cent. cubici di un fluido ottenuto mescolando a parti uguali dell'acqua Marcia col saggio di terra in discorso, ed iniettato appena le parti più pesanti della miscela si furono depositate. Il risultato di questa operazione si vede nella tabella seguente:

TABELLA VII. — Temperature e pesi del coniglio N. XIV.

Giorno	Ora	Temperatura	Peso	Giorno	Ora	Temperatura	Peso
12 Maggio	4 p.	39,3	1421 gr.	16 Maggio	10 p.	40,5	1309 gr.
»	6 p.	39,3		17 »	6 a.	40,7	
»	8 p.	39,3		»	8 a.	40,8	
»	10 p.	39,25		»	10 a.	40,6	
13 »	6 a.	39,25	»	12 m.	40,8		
»	8 a.	39,2	»	2 p.	40,7		
»	10 a.	39,0	»	4 p.	40,6		
»	12 m.	39,1	»	6 p.	40,7		
»	2 p.	39,4	»	8 p.	41,1		
»	4 p.	39,5	»	10 p.	41,3		
»	6 p.	39,3	18 »	6 a.	41,1		
»	8 p.	39,6	»	8 a.	41,2		
»	10 p.	39,5	»	10 a.	40,9		
14 »	6 a.	39,4	1412 gr.	»	12 m.	40,7	
»	8 a.	39,4 ¹	»	»	2 p.	40,6	
»	10 a.	40,2	»	»	4 p.	40,7	
»	12 m.	39,9	»	»	6 p.	40,75	
»	2 p.	41,25	»	»	8 p.	40,5	
»	3 p.	41,8	»	»	10 p.	40,4	
»	6 p.	41,3	19 »	6 a.	40,4		
»	8 p.	41,0	»	8 a.	40,4		
»	10 p.	40,9	»	10 a.	40,5		
15 »	6 a.	40,7	»	12 m.	40,4		
»	8 a.	40,6	»	4 p.	40,3		
»	12 m.	40,4	»	6 p.	41,2		
»	2 p.	40,8	»	8 p.	41,5		
»	4 p.	41,0	»	10 p.	41,2		
»	6 p.	40,7	20 »	6 a.	40,7		
»	8 p.	40,4	»	8 a.	40,6		
»	10 p.	40,6	»	12 m.	40,1		
16 »	6 a.	40,1	»	»	2 p.	40,5	
»	8 a.	40,0	»	»	4 p.	40,2	
»	10 a.	39,8	1303 gr.	»	6 p.	40,2	
»	2 p.	40,55	»	»	8 p.	40,0	
»	4 p.	40,2	»	»	10 p.	40,5	
»	6 p.	40,1	21 »	6 a.	40,9 ²		
»	8 p.	40,6				1373 gr.	

¹ Si fa la iniezione di 6,4 cent. cub. del liquido. — ² Viene necro.

Questa febbre è una delle più caratteristiche pel suo andamento, e nello stesso tempo una delle più gravi da noi prodotte, come lo mostra la elevazione delle massime temperature nel 1.^o accesso (41,8° C.) e nel 3.^o (41,5° C.). Ma sebbene la febbre

fosse così grave, il peso dell'animale dopo la prima remissione andò crescendo sempre, benchè di non molto (70 grammi).

All'autopsia si trovò una grande povertà di sangue in tutto l'organismo, e questo sangue era talmente scolorato, che non poté servire a fare la stampa naturale della milza, per cui bisognò farla, tingendo la milza col sangue del n. X ucciso contemporaneamente.

La milza, relativamente alla piccolezza dell'animale, era molto grossa, molle, di colore scuro, e di sezione triangolare (tav. I, fig. XIV). La sua lunghezza era di 62,4^o mm., la larghezza 12,8 mm., la grossezza 4,8: l'indice della milza era -- 2792, cioè quattro volte maggiore del normale. Quest'organo conteneva una grandissima quantità di pigmento nero, ed un numero grandissimo di corpi ovali semoventi, del diametro di 0,00095 mm., ma nessun bacillo o filamento. I corpuscoli ovali si trovarono anche nel midollo delle ossa e perfino nell'umore acqueo dell'occhio, che venne osservato per caso al microscopio, perchè ce ne volevamo servire come liquido aggiunto alle altre preparazioni. Il solo luogo nel quale si trovarono bacilli e filamenti simili a quelli della milza e del midollo osseo dei n. XII e XIII, fu un piccolissimo ascesso formatosi nel luogo della iniezione.

Ricchissima di spore ovali era anche la linfa delle glandule mesenteriche superiori, le quali erano cariche di pigmento nero.

Volendo classificare queste tre qualità di terra sperimentata, a seconda della potenza infettiva spiegata da ognuna di esse, l'ultimo posto spetta certamente a quella tolta dall'aquitrino del Casale della Valchetta, il quale si trova nelle stesse condizioni fisiche dell'altro acquitrino situato superiormente sulla collina, ma il quale, a differenza di quest'ultimo, è impregnato di molte materie escrementizie animali. La scarsa potenza morbigena del saggio tolto da questo acquitrino, e quella ugualmente scarsa del terreno ricco di *humus* preso nel giardino di villa Spada, sembravano accennare ad una diminuzione dell'attitudine dei terreni a generare malaria, quando la composizione di essi viene modificata dalla cultura e dalla mescolanza di materie escrementizie. Volemmo quindi fare un'altra prova per mezzo di un saggio di terra preso da una carciofaia della valle del Cremera, posta in vicinanza del campo arato, la terra del quale aveva prodotta la infezione del coniglio n. XIV. Il terreno di questa carciofaia era molto disgregato ed abbondantemente concimato.

La brevità del tempo che ci rimaneva ancora per i nostri lavori in Roma, non ci permise di far subire a questo saggio di terra lo stesso trattamento degli altri tre, ponendolo per qualche giorno nelle stesse condizioni nelle quali i terreni malarici si trovano durante l'estate. Ci dovvemmo contentare di mescolare a parti uguali con acqua una porzione della terra, arrivata dalla Valchetta in una cassetta di latta ben chiusa, e di adoperare il liquido così ottenuto appena depositatesi le parti più pesanti. La ricerca si fece contemporaneamente il 18 maggio su due conigli, n. XV e XVI, i quali non avevano servito ad alcuna ricerca, e dei quali da due giorni erano state misurate le temperature normali (tav. V, curve XV e XVI). Al n. XVI vennero iniettati nel modo consueto 6,4 cent. cubici del liquido torbido non filtrato: esso ebbe tre accessi febbrili in tre giorni con temperature massime sempre minori, e temperature

minime sempre crescenti. È il tipo di una quotidiana che va convertendosi in una subcontinua remittente. Al n. XV furono iniettati 6,4 cent. cubici dello stesso liquido passato per doppio filtro di carta svedese: si ebbe da principio un aumento di temperatura fino a 40,15° che durò poco, poi per 14 ore una temperatura minore della media, e quindi tre leggeri aumenti di temperatura che superavano di uno o due decimi di grado la media normale, e si succedevano ad intervalli irregolari.

Questo duplice esperimento, mentre dimostra una notevole diminuzione della potenza infettante del liquido dopo la sua filtrazione, sembra dimostrare inoltre che questa potenza era già molto limitata anche nel liquido non filtrato. Quindi potrebbe essere anch'esso citato in appoggio della ipotesi: *che una razionale cultura del suolo diminuisca la produzione della malaria, ancor in regioni nelle quali questa produzione è molto grande* (*).

Noi abbiamo in animo di intraprendere delle ricerche molto più estese e complete, onde tentare di risolvere questa questione che è di un così grande interesse economico ed igienico; gli elementi che possediamo fin qui non permettono se non di accennare ad una probabilità.

V. GRUPPO. *Ricerche con saggi di terra provenienti da luoghi non malarici.* Noi non abbiamo avuto agio sinora di istituire ricerche di questo genere se non in due animali. La ristrettezza del tempo non ci ha permesso di moltiplicarne il numero e di adoperare in esse terreni di varie località, come è desiderabile che si faccia per risolvere due questioni di grande interesse. Infatti simili ricerche, se da un lato possono servire di riscontro a quelle istituite con terreni di località malariche, possono dall'altro lato fornirci il modo di apprezzare la estensione reale della distribuzione dei germi malarici sulla superficie della terra. È molto probabile che la diffusione di questi germi sia maggiore di quella che ci vien rivelata dalla esistenza dell'endemia malarica, e che essi si trovino in molte località nelle quali l'endemia malarica manca, soltanto perchè mancano le condizioni naturali necessarie ad un completo sviluppo di tali bacilli. Procurando artificialmente queste condizioni necessarie, si dovrebbero

(*). Crediamo opportuno di dire espressamente che noi, per *cultura razionale del suolo*, intendiamo l'applicazione di TUTTI quei mezzi che possono renderlo atto ad una buona produzione agricola, e che fra questi mezzi poniamo in prima linea la sistemazione delle acque contenute nel suolo medesimo. Senza di ciò la cultura del suolo, per quanto intensa e ben regolata possa essere, riesce impotente a procurare o a mantenere una bonifica. Lo prova l'esempio della Val di Chiana, che è egregiamente coltivata dappertutto, dove alcune località perfettamente bonificate dalla sistemazione delle acque e poi dalla cultura intensiva, sono ridiventate insalubri quando la sistemazione delle acque è divenuta imperfetta, sebbene le culture siano rimaste quello che erano negli anni di salubrità completa. Noi riferiamo la minor potenza morbigena che abbiamo riscontrata nelle terre coltivate di villa Spada e della Valchetta, non solo alle modificazioni indotte in esse dalla concimazione, ma ancora, e principalmente, alla sistemazione delle acque in questi terreni. Infatti, nella villa Spada, il terreno dal quale fu tolto il saggio è da molto tempo sistemato a giardino di piacere; e nelle terre coltivate della Valchetta, l'intelligente e coraggioso proprietario di quella tenuta (cav. Piacentini) ha eseguite estese e profonde canalizzazioni, che assicurano lo scolo nel Cremera di tutte le acque in esse contenute. Senza questa previa sistemazione delle acque, potrebbe avvenire talvolta che la disgregazione del terreno procurata dalla cultura intensiva ne peggiorasse le condizioni igieniche, moltiplicando gli accessi dell'aria fino agli strati umidi del sottosuolo dove la produzione della malaria ha sede, come sembra essersi in alcuni casi verificato.

in tal caso rendere infettanti dei saggi di terra provenienti da luoghi, nei quali la produzione della malaria non si rivela per mezzo di una azione malefica sulla salute umana. Ciò è quanto faremo in seguito con terre di varie provenienze, istituendo contemporaneamente delle ricerche parallele coi terreni romani, come già si è incominciato a fare nell'Istituto Patologico di Praga.

Le due ricerche fatte sinora sono state istituite con la terra del giardino annesso all'Istituto Patologico dell'Università di Praga. Questa terra è formata da schisti siluriani disgregati, è in sito da 20 anni circa, ed era stata concimata negli ultimi due anni. Non era stata lavorata nè concimata in quest'anno, e quindi era rimasta molto compatta. Con questa terra si fece un acquitrino artificiale che fu mantenuto per 4 giorni alla temperatura di 35° — 40° C. Una porzione di questa terra fu il 9 giugno mescolata con acqua, e dopo depositatesi le parti più pesanti, vennero iniettati 10 cent. cub. del liquido torbido sotto la pelle del dorso di un grosso coniglio (n. XIX) il quale pesava 2749 grammi. Il liquido venne poi filtrato a traverso un doppio filtro di carta svedese, e 10 cent. cubici di esso vennero iniettati nello stesso modo al coniglio n. XX che pesava 1680 grammi.

Questi animali erano stati tenuti due giorni in osservazione per misurarne la temperatura normale (tav. V, curve XIX e XX). Dopo la iniezione insorse nel coniglio n. XIX una febbre, durante il corso della quale le temperature minime furono sempre molto superiori alla media normale. Questa febbre continua ebbe dopo la prima remissione (39,9° C.) due recrudescenze, durante le quali la temperatura salì a 41,1° C. e a 41,8° C.: da quest'ultima massima fino alla morte naturale, che avvenne quando l'animale aveva ancora una temperatura di 40,4° C., decorsero 22 ore.

Nel coniglio n. XX insorse dopo la iniezione una febbre che, per l'aspetto generale della curva, somiglia ad una quotidiana. I sei accessi osservati sono divisi in due gruppi di tre ciascuno, separati da una intermittenza fra il terzo e il quarto accesso, nella quale la temperatura, da 40,0° che era nell'acume del terzo accesso, discese a 37,5° C., per risalire poi durante il quarto accesso sino a 40,3° C. Questo animale fu ucciso quando il n. XIX morì, e l'autopsia di ambedue fu fatta immediatamente.

Nel n. XIX si trovò una vasta suppurazione nel luogo della iniezione, un grave edema polmonale, e tutti gli organi atrofici e poveri di grasso. La milza era aumentata di volume e molle. Nel n. XX l'atrofia generale era molto pronunziata: la milza piccolissima. Ambedue gli animali avevano grandemente diminuito di peso.

Peso del corpo

	In principio.	Alla fine.	Differenza in meno
XIX.	2749 gr.	2285,5	— 463,5
XX.	1680 gr.	1175,5	— 504,5

Dimensioni della milza

	Lunghezza	Larghezza	Groschezza	Indice della milza
XIX.	60,8 mm.	11,2 mm.	4,0 mm.	— 1261 } L'indice normale
XX.	30,8 mm.	4,8 mm.	1,6 mm.	— 201 } è = 664

La febbre del n. XIX era indubbiamente una febbre settica, e quella del n. XX era probabilmente niente altro che una febbre tifica prodotta dalla infezione settica, nella quale, come si vede talvolta avvenire nell'uomo, le alternative delle temperature erano simili a quelle delle febbri quotidiane da malaria. Lo stato della milza, l'indice della quale non arrivava nemmeno al terzo dell'indice normale, non permette di interpretare questa febbre intermittente come una febbre prodotta da infezione malarica.

VI. GRUPPO. *Infezioni settiche prodottesi spontaneamente negli animali di prova.* Sebbene non occorran prove speciali per dimostrare, che le febbri malariche da noi prodotte artificialmente sono molto diverse dalle febbri settiche, è interessante paragonare ciò che abbiamo già esposto riguardo alle prime, con quanto venne osservato in conigli i quali vivevano nelle medesime condizioni degli altri, e nei quali spontaneamente si sviluppò una infezione settica.

In due degli animali portati nel nostro laboratorio, questa infezione si manifestò prima che essi fossero adoperati in alcuna ricerca. In uno di essi (n. VI), piccolo animale del peso di 1236 gr., la temperatura che nel primo giorno era sotto la normale incominciò a crescere, e crebbe quasi continuamente fino a raggiungere poco prima della morte naturale del coniglio (tav. IV, curva VI) l'altezza di 40,9° C. (colla correzione 41,0° C.). All'autopsia si trovò una grave peritonite con abbondante essudato di siero e di masse fibrinose, prodotta da una ulcerazione che aveva perforato il grosso intestino. L'animale era anemico, nel cuore si trovarono dei grumi sanguigni assai densi: i polmoni erano fortemente edematosi. La milza era medioeremente ingrossata, molle, di color rosso-pallido, i suoi spigoli erano molto arrotondati come si può vedere dalle sezioni trasversali praticatevi, e stampate accanto alla stampa naturale della faccia convessa dell'organo (tav. I, fig. 17) il quale non conteneva pigmento nero nè bruno.

Peso del corpo		Dimensioni della milza			Indice della milza	
Da principio	Alla fine	Lunghezza	Larghezza	Grossezza		
VI.	1236 gr.	1057 gr.	53,00 mm.	9,0 mm.	4,5 mm.	1998
Differenza in meno =		79				

Il secondo caso si verificò in un grosso coniglio (n. XI) il quale aveva già la febbre quando fu portato nel laboratorio (tav. IV, curva XI). Il primo e il secondo giorno la temperatura salì fino a 40,0° e 40,3°; il terzo giorno si ebbero due brevi remissioni; il quarto la temperatura ascese gradatamente fino a 40,8° e si praticò l'apertura di un vasto ascesso formatosi al collo. Nei due giorni seguenti si verificò una diminuzione progressiva della temperatura, forse aiutata da una medicazione col benzoato di magnesia. Poi ricomparve una forte febbre durante la quale per sei giorni e mezzo, cioè fino a quando l'animale venne ucciso, la temperatura fu sempre molto elevata anche nelle remissioni, fuorchè alla metà del secondo giorno, nella

quale la temperatura discese per brevissimo tempo fino alla media normale. La medicazione col benzoato di magnesia, praticata in quest'ultimo periodo della malattia, riuscì insufficiente a moderare l'intensità del processo morboso.

Questo animale, durante tutto il corso della malattia mangiò enormemente, e sebbene la febbre fosse così grave e continua, aumentò un poce di peso.

All'autopsia, fatta immediatamente dopo la necisione, si trovò la milza molto grossa e mollissima, cogli orli arrotondati, e con una sezione trasversale ellittica (tav. I, fig. XI): essa non conteneva pigmento nero nè bruno. Il sangue era acquoso e scolorato, come si vede dalla stampa naturale di questa milza fatta per mezzo del medesimo. La pleura polmonale conteneva delle piccole ecchimosi: i polmoni erano iperemici ed edematosi; il cuore destro era ripieno di sangue, il sinistro era vuoto. Nella regione sottomascellare v'era una vasta cavità d'ascesso, ed un'altra occupava la regione scapolare destra; intorno ad essa si trovava una estesa infiltrazione purulenta.

	Peso del corpo		Dimensioni della milza			Indice della milza
	Da principio	Alla fine	Lunghezza	Larghezza	Groschezza	
XI.	2578 gr.	2655 gr.	79 mm.	13,8 mm.	6,5 mm.	2669
Differenza in più = 77						

Annotazioni complementari.

Crediamo di avere esposto nel precedente Capitolo i risultati delle nostre ricerche abbastanza dettagliatamente, perchè si possa giudicare il valore delle conclusioni pubblicate da noi in precedenza (¹). Noi siamo i primi a riconoscere che un argomento di tanta importanza e difficoltà, non può considerarsi come esaurito senza ulteriori e più estese ricerche, ma riteniamo intanto di aver provato: 1° che le affezioni malariche si possono riprodurre artificialmente negli animali (conigli) in quelle stesse forme che sono già conosciute nella patologia umana; 2° che queste affezioni malariche artificialmente prodotte, sono suscitate da organismi che si trovano nel suolo delle regioni malariche prima della comparsa delle febbri e i quali, anche in quest'epoca, possono sollevarsi negli strati dell'atmosfera più prossimi al suolo.

Dobbiamo adesso completare l'esposizione di alcuni fatti che non hanno potuto essere illustrati interamente nel capitolo precedente, e dire di una conferma che i nostri risultati hanno recentemente avuta da alcune osservazioni fatte sull'uomo. Questa conferma ha tanto maggiore importanza, in quanto che tali osservazioni non sono state fatte da noi, bensì dal dott. Ettore Marchiafava, dopo la nostra partenza da Roma.

1. *Alterazioni anatomiche osservate negli animali ai quali venne procurata la infezione malarica.* La nostra tavola di stampe naturali della milza basta a dimostrare

(¹) Atti della R. Accademia dei Lincei. Volume III, serie 3.^a Transunti.

la costanza del rigonfiamento caratteristico di quest'organo in tutti i nostri casi, ed a far riconoscere le differenze fra le iperplasie malariche di essa, e le tumefazioni settiche riprodotte dalle figure VI e XI. Abbiamo già descritte le particolarità di forma e di struttura trovate in queste milze iperplastiche, ma dobbiamo illustrare un po' più estesamente di quanto abbiamo potuto fare nelle descrizioni particolari, una delle alterazioni riscontratevi, cioè la presenza del pigmento nero.

Non intendiamo qui decidere la questione se questo pigmento, il quale nelle gravi infezioni malariche dell'uomo si trova talvolta in quasi tutti gli organi del corpo, si produca esclusivamente nella milza, ovvero anche in altri organi (specialmente nel midollo delle ossa), o forse anche in tutta la estensione del circolo sanguigno. Certo si è che esso deriva direttamente dall'emoglobina del sangue, come Langhans aveva già provato pel pigmento color di ruggine. Questa derivazione diretta del pigmento nero delle infezioni malariche dalla emoglobina del sangue, è stata dimostrata da Marchiafava (*) il quale ha seguito entro i globuli rossi per nulla alterati nella loro struttura, le trasformazioni dell'emoglobina in un pigmento dapprima rosso-scuro, poi nerastro, ed in ultimo interamente nero. Questo pigmento nero contiene del ferro in combinazione inorganica, e diviene turchino quando è trattato con acido idroclorico allungato e poi con ferrocianuro di potassio (Klebs). Noi abbiamo ottenuta questa reazione anche nei globuli sanguigni divenuti uniformemente neri. *Quindi è indubitato, che nelle malattie malariche l'emoglobina viene decomposta, anche dentro i globuli sanguigni tuttora intatti, in modo da render libero il ferro che prima era unito agli altri componenti organici, e non poteva essere rintracciato mediante quella reazione.* Quindi a buon dritto si può dare a questo pigmento il nome di *melanemico*, e distinguerlo così da tutti gli altri pigmenti che si incontrano nell'organismo.

Nella maggior parte dei casi di infezione malarica da noi prodotti artificialmente, abbiamo potuto riscontrare la formazione di questo pigmento melanemico. La più grande quantità di esso fu trovata nella milza del coniglio n. XIV, nel quale la malattia era stata procurata mediante la terra recentemente arata della Valchetta, e che aveva avuto tre gravi accessi febbrili, in uno dei quali la temperatura era salita fino a 41,8° C. (colla correzione = 41,9°). Il pigmento era abbondantissimo nelle parti periferiche della milza e formava delle zolle grandi ed irregolari, ovvero delle masse a contorno circolare, di un diametro un poco minore di quello dei globuli sanguigni. Le trasformazioni dell'emoglobina entro i globuli rossi ancora intatti poterono essere studiate in tutti i loro stadi in questa milza, e possono esserlo tuttavia nei preparati di essa conservati nel balsamo di Canada. Insieme ai globuli rossi di forme e di dimensioni normali, se ne veggono altri nei quali la forma discoide persiste: ma nei quali la depressione centrale è così forte da farli apparire quasi incolori nel centro, mentre tutto il resto del globulo è formato da una sostanza omogenea semitrasparente, di un colore grigio scuro, simile a quello del nickel non tirato a pulimento. Da questo colore di nickel i globuli passano gradatamente ad una colorazione perfettamente nera, mentre nello stesso tempo divengono opachi e

(*) Commentario clinico di Pisa. Fascicolo del gennaio 1879

quasi sferici. In questo ultimo stadio della trasformazione dell' emoglobina, i globuli sanguigni trattati con acido idroclorico e ferrocianuro di potassio, diventavano turchini.

Una gran parte delle masse pigmentarie trovate in questa milza, era inclusa nelle grandi cellule bianche della polpa splenica. Entro queste cellule si vedevano: o i globuli sanguigni color di nickel e neri ora descritti; o dei granuli pigmentari probabilmente risultanti dalla divisione di questi globuli (microciti melanemici); o delle grosse masse lobulate, nei contorni delle quali si potevano riconoscere le forme primitive dei globuli sanguigni divenuti neri; ovvero delle masse pigmentarie a contorni angolosi. Le osservazioni fatte su questa milza rendono probabile, che la conversione dell'emoglobina in pigmento nero avvenga quando ancora la consistenza dei globuli è normale; che i granuli pigmentari risultino dalla divisione di tali globuli quando, dopo essere stati inclusi nelle cellule bianche, la loro sostanza ha cominciato a rammollirsi; e che le grosse masse pigmentarie lobulate e poi angolose, provengano dalla fusione di più globuli inclusi nella stessa cellula, quando lo stroma di essi ha subito un rammollimento molto avanzato. Colla distruzione delle cellule includenti, i granuli e le masse pigmentarie divengono libere, ed entrano come tali nel circolo. È a notare che Marchiafava ha osservato i medesimi fatti nella milza e nel midollo osseo dell'uomo, specialmente in neonati melanemici (*).

Questo coniglio n. XIV è il solo dei nostri animali di prova nel quale il pigmento melanemico è stato trovato in un altro organo del corpo, oltre la milza. Forse la breve durata dei processi febbrili molto gravi, e la poca gravità dei processi febbrili più lunghi osservati da noi negli altri casi, spiegano questa differenza. Anche in questo animale però, il pigmento non fu potuto vedere se non nelle glandule linfatiche mesenteriche superiori, le quali, esaminate subito dopo la morte, erano di color grigio-bruno. Il pigmento era soprattutto accumulato nei seni linfatici, dove si vedevano gruppi di granuli, alcuni dei quali trasparenti e colore di nickel, altri opachi ed interamente neri. La perfetta identità di queste due specie di pigmento con quelle osservate nella milza, la piccolezza delle masse pigmentarie, la mancanza delle forme di transizione dei globuli rossi in melanemici, ed i luoghi nei quali il pigmento era accumulato, provano che la produzione di esso non aveva avuto luogo nelle glandule linfatiche, ma che esso vi era stato importato, dopo la divisione delle masse o dei globuli pigmentari in piccoli frammenti. Siccome nè il sangue, nè le glandule linfatiche mesenteriche inferiori, contenevano alcuna traccia di questo pigmento, non si può ammettere che esso provenisse dall'intestino o dai vasi sanguigni, e quindi è da supporre che esso venisse importato nelle glandule mesenteriche superiori, da vasi linfatici che le mettono in comunicazione diretta colla milza.

Nei conigli n. XII e XIII, nei quali l'infezione venne prodotta per mezzo della terra dell'acquitrino situato sull'alto della collina della Valchetta, e morti il primo dopo 36, il secondo dopo 12 ore di febbre, la quantità del pigmento nero trovato nella milza era assai minore che nel n. XIV. Ciò forse si doveva alla molto minor durata della loro malattia. Fra le due milze, la più ricca di pigmento melanemico

(*) Marchiafava. Memoria citata.

era quella del n. XIII, benchè la febbre avesse durato assai meno; ma la elevazione maggiore della temperatura e la rapidità colla quale l'animale venne condotto a morte, accennano ad una gravità della infezione, maggiore che nel caso del n. XII. È notevole che in ambedue i casi una parte relativamente grande del pigmento si trovò nei corpuscoli di Malpighi, e specialmente in vicinanza delle arterie. Probabilmente ciò era il risultato di una rapida introduzione del pigmento nel circolo sanguigno, non potendosi ammettere che esso si fosse formato in questi corpuscoli, nei quali in nessun altro coniglio, nemmeno nel n. XIV che aveva una vera *milza nera*, si trovò traccia di pigmentazione.

Nella milza del n. V, nel quale la infezione era stata procurata per mezzo del residuo rimasto sul filtro, della cultura fatta coll'aria di Ninfa e di Fogliano, e il quale durante otto giorni aveva avuto delle febbri, si trovò molto pigmento rosso-bruno ed una gran quantità di pigmento color nickel. Anche in questo caso si poterono studiare benissimo le trasformazioni dei globuli rossi del sangue in globuli color di nickel, nei quali la forma discoide era perfettamente conservata.

Invece nella milza del n. III, al quale era stato iniettato il liquido filtrato della medesima cultura, e che aveva avuta una febbre leggera, non si trovava che del pigmento color ruggine in scarsissima quantità.

In tutti gli altri nostri casi una piccola, talvolta piccolissima, quantità di pigmento nero fu riscontrata, ad eccezione dei due conigli n. XV e XVI. Su questi due conigli era stata sperimentata l'azione del terreno coltivato a carciofi; essi avevano avuto febbri lievissime, ed erano stati uccisi pochi giorni dopo l'iniezione: è dubbio anzi se nel n. XV si riuscisse ad ottenere una infezione malarica.

I due casi di setticoemia n. VI e XI si trovano sotto questo rapporto in vera opposizione coi casi di infezione malarica. Nelle milze di questi due conigli infatti non si trovò pigmento nero, e nemmeno del pigmento bruno. Vi si vedevano soltanto molte delle grosse cellule bianche ripiene di piccoli granuli uniformi colore arancione.

2. *Bacillus malariae*. Noi abbiamo già descritte nel capitolo III le forme principali della pianta trovata da noi nel suolo e nell'aria di regioni malariche, la quale, dopo essere stata coltivata, produsse forme morbose perfettamente uguali a quelle suscitate dai materiali grezzi che avevano servito a preparare le culture. Per quanto riguarda la questione patologica sulla vera causa della malaria, che per noi è in prima linea, basta l'aver sperimentamente riconosciuto che una determinata forma di Bacillo deve essere considerata come l'eccitatrice della infezione malarica. Spetta ai botanici il determinare quali ulteriori sviluppi questo organismo possa avere, e tutte le pertinenze biologiche del medesimo. Crediamo intanto sia debito nostro l'esporre i risultati di tutte le osservazioni che ci è occorso di fare in proposito, anche a rischio di veder più tardi soggetti a correzione alcuni di questi risultati.

Abbiamo già detto come le forme più semplici del *Bacillus malariae* provengano da filamenti omogenei, spesso tortuosi od ansiformi, i quali, quando sono coltivati nella colla di pesce, nell'albumina d'uovo, nell'orina, si dividono in articoli, e producono spore nel loro interno prima che questa divisione avvenga, o dopo che essa è avvenuta. La posizione di queste spore nell'interno degli articoli varia: talvolta

esse si trovano soltanto alle due estremità dell'articolo, tal'altra soltanto nel mezzo di esso; altre volte si osservano nello stesso articolo una spora mediana e due terminali. Questi caratteri possono servire a distinguere il *Bacillus malariae* da altre forme patogeniche di bacilli.

Alcune culture ci mostrarono assai bene lo sviluppo dei filamenti da queste spore divenute libere. Nei corpuscoli ovali e brillanti più volte descritti, uno dei poli si allunga in una appendice, che adagio adagio si converte in un bastoncino (fig. 2 *d, e*). Talvolta si vede nelle giovani spore il rischiaramento della sostanza di uno dei poli precedere la formazione dell'appendice (fig. 2 *c*). Altre volte la formazione del bastoncino procede da ambedue i poli della spora ad un tempo, in seguito alla formazione di due appendici.

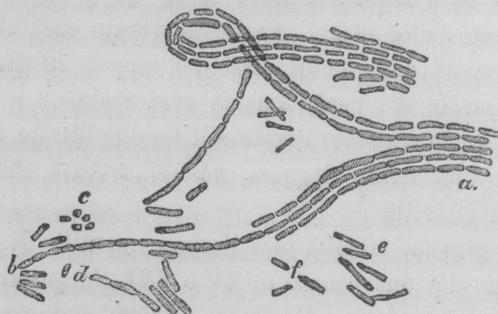


FIG. 2.

Bacillus malariae. Preparato n. 2 del 26 aprile, colorato con violetto d'anilina. Esso venne tolto da una camera ad aria microscopica nella quale si era posta il 15 aprile, insieme con dell'albume d'uovo, una piccolissima goccia della cultura del fango del Caprolace nel tubo n. 2.

I bastoncini, allungandosi, producono poi dei filamenti omogenei. Talvolta si sviluppano nell'interno dei medesimi due spore terminali, ovvero una mediana (fig. 2 *e*): in alcuni casi le spore sono disposte nel loro interno, in modo da farle credere prodotte da divisioni avvenute in sito di una spora precedentemente formatasi (fig. 2 *f*).

Talvolta, prima che la divisione dei filamenti già sviluppatasi avvenga e si producano i filamenti articolati (fig. 2 *a b*) si vedono formarsi nell'interno dei medesimi alcuni corpuscoli ovali brillanti (tav. II, fig. 1 *d*) ed il filamento crescere così rapidamente da poter seguire coll'occhio il suo accrescimento, empiendosi di piccoli granuli brillanti, mentre le spore ovali scompaiono (tav. II, fig. 1 *d'*). Noi non siamo in caso di decidere se i piccoli granuli provengano da uno spezzettamento delle spore preesistenti, ovvero rappresentino una moltiplicazione di esse dovuta a nuove precipitazioni del plasma.

Con questa forma di evoluzione sembrano essere connesse alcune forme di sviluppo osservate da noi, tanto in una cultura dell'aria di Ninfa e di Fogliano in orina, quanto in una cultura del limo del Caprolace in colla di pesce. Esse sono disegnate nella fig. 8, tav. II quali si vedevano coll'obiettivo $\frac{1}{12}$ di pollice (immersione ad olio) e l'oculare n. IV di Zeiss. Sono filamenti articolati, ripieni di piccoli granuli lucenti (*a, a, a*). La divisione in articoli incomincia in questi filamenti colla formazione di una membrana divisoria che separa due porzioni del protoplasma. Le estremità degli articoli novellamente formati si arrotondano, la distanza fra due articoli confinanti diviene sempre maggiore, ed il legame che gli unisce è così debole da renderne facilissima la separazione. Le masse granulose omogenee contenute negli articoli si dividono in senso longitudinale o trasversale, o nei due sensi ad un tempo,

producendo delle sferule (fig. 8 *b*) divise da interstizi chiari. Anche in *c* si vede questa divisione, ma i prodotti di essa sono separati da interstizi minori che in *b*.

Noi non possiamo decidere se queste forme appartengano alla serie delle evoluzioni normali del *Bacillus malariae*, ovvero rappresentino delle anomalie di sviluppo, prodotte dalle speciali condizioni di nutrizione nelle quali era posto dalle nostre culture. L'insieme delle nostre osservazioni ci fa ritenere che anche le forme della fig. 8 appartengano a questa specie di *Bacillus*: se ulteriori osservazioni dimostreranno il contrario, ciò non cambierebbe le altre nostre conclusioni, perchè in tal caso si tratterebbe soltanto di una mescolanza con altre forme di schistomicieti, verificatesi accidentalmente in due delle nostre culture.

Di maggiore importanza sono le osservazioni sullo sviluppo ulteriore delle forme del Bacillo, trovate nei nostri animali di prova. La figura 5 della tav. II rappresenta appunto lo sviluppo molto avanzato di quelle forme della pianta, che furono da noi incontrate nel siero della linfa del coniglio n. I. Questo siero era stato chiuso il 21 aprile nella camera ad aria microscopica n. 7. Esso conteneva allora molti corpi ovali semoventi, alcuni dei quali avevano due appendici polari (spore germoglianti); ed inoltre dei filamenti omogenei che oscillavano lentamente. Il 22 aprile si trovarono nella camera microscopica le forme della fig. 4, tav. II, cioè: spore libere, e filamenti leggermente contorti, dei quali alcuni avevano delle spore alle due estremità. Il 23 aprile lo sviluppo dei filamenti era enormemente aumentato, ed essi formavano dei fascicoli incrociati per modo da rappresentare una rete a grandi maglie (fig. 5). Alcuni di questi filamenti mostravano una divisione in articoli di diverse lunghezze, ancora strettamente uniti fra loro. *Cosicchè da un liquido del corpo di un animale infetto si ottennero, senza aggiunta di alcun'altra sostanza, delle forme identiche a quelle ottenute mediante la prima cultura del materiale grezzo, e le culture successive del medesimo.* È da notare che questo grande sviluppo dei filamenti fu osservato più volte da noi in altre culture, e specialmente in quella che fornì il preparato della fig. 2 (pag. 60).

Rammentiamo per ultimo che lo sviluppo del Bacillo in lunghi filamenti omogenei, identici a quelli ottenuti per mezzo delle culture, venne osservato nella milza del coniglio n. XIII, e nella milza e nel midollo delle ossa del coniglio n. XII.

3. *Bacillus malariae nell'uomo.* Il dott. Ettore Marchiafava, primo assistente alla Cattedra di Anatomia Patologica della Università di Roma, ha avuta l'opportunità di sezionare i cadaveri freschissimi di tre individui morti di pernicioso, dopo la comunicazione da noi fatta all'Accademia. Queste autopsie furono eseguite seguendo scrupolosamente alcune indicazioni da noi date, onde evitare la possibile mescolanza di organismi vegetabili estranei ai liquidi ed ai tessuti del corpo. Nella prima autopsia, eseguita ai 25 luglio, fu omesso di esaminare il sangue, e nella milza e nel midollo delle ossa non vennero incontrate forme bacillari, ma soltanto si trovò una quantità notevole di spore. La seconda autopsia fu fatta il 19 agosto, in un uomo morto durante il secondo accesso di una pernicioso comatoso nello Spedale di S. Spirito. In questo individuo la milza era raddoppiata di volume, di colore bruno e mollesima; il midollo delle ossa era rosso bruno; i reni ed il fegato erano ricchi di sangue, e così pure il cervello e le meningi; il cuore destro era ripieno di sangue

disciolto, il sinistro vuoto; v'era inoltre una ipostasi bilaterale dei polmoni. Nessun'altra alterazione anatomica venne riscontrata. La polpa splenica; il succo del midollo osseo; il succo delle glandule linfatiche celiache; il sangue della vena splenica, della vena porta, delle vene epatiche e del cuore destro, vennero raccolti in tubi capillari di vetro, chiusi immediatamente alla lampada.

Nella polpa splenica e nel midollo osseo fu trovata una piccola quantità di pigmento color ruggine, in masse libere od incluse negli elementi cellulari, una discreta quantità di spore ovali, ed inoltre alcuni bastoncelli analoghi a quelli della fig. 1 a della nostra tav. II. Nel succo delle glandule linfatiche ed in tutti i saggi del sangue, esaminati senza aggiunta di alcun altro liquido, fu osservata una gran quantità di bacilli, alcuni dei quali omogenei, altri articolati e perfettamente identici a quelli rappresentati nella fig. 3 della nostra tav. II. Le culture di porzioni della polpa splenica e di alcune gocce del sangue, in orina bollita e mantenuta alla temperatura di 35 C. in bocce chiuse da cotone previamente riscaldato ad alta temperatura, produssero delle forme perfettamente identiche a quelle delle fig. 5 e 6 della nostra tav. II.

La terza autopsia fu praticata il 20 settembre in un campagnolo dell'età di 55 anni, morto nel secondo accesso di una pernicioso comatosa nello Spedale di S. Spirito. In questo caso, a differenza del caso precedente, esisteva una gravissima melanemia generale. La milza era quasi raddoppiata di volume, la polpa splenica diffuente e di color nero; il midollo osseo di color cioccolatte. Il fegato aveva un colore plumbeo e la sostanza grigia del cervello un colore ardesiaco. Nel sangue di tutte le parti del corpo si trovavano granuli e masse di pigmento nero libere, ovvero incluse nelle cellule bianche. Nel sangue, nel midollo osseo e nella milza v'erano moltissime spore ovali dotate di movimenti vivacissimi: (la temperatura dell'atmosfera era di 29° C.). Oltre a ciò furono osservati nella milza e nel sangue dei bastoncelli oscillanti simili a quelli della fig. 1 a della nostra tav. II, e dei bastoncelli contenenti nuclei, simili a quelli della fig. 1 f e della fig. 7 c. Nel sangue di tutte le parti del corpo, nel midollo osseo e nella milza, si vide inoltre un numero grandissimo di lunghi filamenti omogenei, alcuni dei quali contorti come quello della fig. 7 tav. II, e di lunghi filamenti omogenei ed articolati, perfettamente identici a quelli della fig. 5 della medesima tavola. Questi ultimi erano abbondantissimi nella milza, dove talvolta raggiungevano una lunghezza di 0,16 millimetri.

Ad alcune di queste osservazioni prese parte il dott. Valenti, professore di Patologia generale nella Università romana, ed i risultati dell'ultima autopsia poterono essere verificati anche da uno di noi (Tommasi-Crudeli), che si trovava di passaggio in Roma.

Queste osservazioni verranno in seguito completamente illustrate in tutti i loro dettagli dal dott. Marchiafava. Noi ci limitiamo qui a dare questa breve notizia dei risultati principali di esse, che formano un corollario importante di tutto ciò che avemmo l'onore di esporre all'Accademia nella seduta del 1° giugno.

19086



INDICE

CAPITOLO I. Produzione della malaria. Esposizione delle ricerche istituite in passato per deter- minarne la natura	pag. 3
CAPITOLO II. Metodo della ricerca	» 18
CAPITOLO III. Ricerche	» 25
Esperimenti sui conigli	» 30
1. ^o Gruppo. Conigli normali	» 31
2. ^o Gruppo. Ricerche con materie infettanti raccolte nelle Paludi Pontine	» 32
a. Ricerche parallele col fango del lago di Caprolacc.	» »
b. Ricerche parallele col fango del lago di Caprolacc e coi saggi dell'aria di Ninfa e di Fogliano	» 35
c. Ricerche parallele sulla efficacia morbigena del liquido ottenuto colla filtrazione della cultura dei saggi d'aria di Ninfa e di Fogliano	» 41
d. Ricerche parallele col <i>Bacillus malariae</i> coltivato in vaso aperto ed in vaso chiuso »	41
3. ^o Gruppo. Ricerche con saggi di terreni del Gianicolo	» 45
4. ^o Gruppo. Ricerche con saggi di terreni dell'Agro romano	» 47
5. ^o Gruppo. Ricerche con saggi di terreni provenienti da luoghi non malarici	» 53
6. ^o Gruppo. Infezioni settiche prodottesi spontaneamente nei conigli	» 55
Annotazioni complementari	» 56
1. ^o Alterazioni anatomiche osservate negli animali ai quali venne procurata la infezione malarica	» 57
2. ^o <i>Bacillus malariae</i>	» 59
3. ^o <i>Bacillus malariae</i> nell'uomo	» 61

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE

Tavola I.

Stampe naturali delle milze dei conigli n.° I-XVIII, ottenute applicando sulla carta la superficie convessa dell'organo appena estratto dal corpo, dopo averlo tinto con un poco di sangue dell'animale stesso. Accanto ad ogni stampa della superficie convessa della milza, vi sono due o tre stampe naturali della sezione trasversale dell'organo, praticata nel tratto dove la milza presentava la maggiore grossezza.

Fig. XVII e XVIII. Milze di conigli normali. Il coniglio n. XVII pesava 1755 grammi, il n. XVIII 1591 grammi.

Fig. I. Milza del coniglio n. I, al quale venne iniettato il 16 aprile 1,5 cent. cub. dell'acqua raccolta alla superficie del fango del Caprolace, ed il quale venne ucciso il giorno 21 aprile. L'animale pesava al momento della morte 1387 grammi. La curva delle temperature di questo coniglio si vede nella Tav. III n.° I, II.

Fig. II. Milza del coniglio n. II, al quale vennero iniettati il 16 aprile 0,6 cent. cub. della cultura in gelatina del fango del Caprolace, e successivamente 1,6 cent. cub. della cultura in orina dei saggi d'aria di Ninfa e di Fogliano il 25 aprile, e 3,20 cent. cub. della stessa cultura il 27 aprile. L'animale venne ucciso il 6 maggio; pesava allora 1602 grammi. La curva delle temperature di questo coniglio si trova nella tav. III unita a quella del precedente.

Fig. III. Milza del coniglio n. III al quale vennero iniettati il 25 aprile 1,3 cent. cubici dell'acqua che aveva riposato lungamente sul fango del Caprolace, e 3,20 cent. cub. dello stesso liquido il 27 aprile; ed al quale poi vennero iniettati il 2 maggio 16 cent. cub. del liquido ottenuto filtrando a traverso il gesso la cultura in orina del saggio dell'aria di Ninfa e di Fogliano. L'animale venne ucciso l'11 maggio; al momento della morte pesava 1759 grammi. La curva delle sue temperature si vede nella tav. III n.° III e IV.

Fig. IV. Milza del coniglio n. IV, al quale venne iniettato il 25 aprile 1,6 cent. cub. di una cultura del fango del Caprolace in colla di pesce, disposta il 23 aprile; ed ai 26 aprile venne fatta la iniezione di $\frac{3}{4}$ di centimetro cubico del medesimo liquido di cultura. L'animale venne ucciso il 5 maggio; al momento della morte pesava 1529 grammi. La curva delle temperature di questo coniglio è unita nella tav. III a quella del precedente.

Fig. V. Milza del coniglio n. V al quale vennero iniettati il 2 maggio 3,2 cent. cub. del residuo rimasto sul filtro di gesso, dopo la filtrazione della cultura in orina dei saggi d'aria di Ninfa e di Fogliano. L'animale venne ucciso l'11 maggio; al momento della morte pesava 1807 grammi. La curva delle sue temperature si vede nella tav. III n. V.

Fig. VI. Milza del coniglio n. VI, morto di setticemia in seguito ad una peritonite da ulcerazione intestinale. L'animale pesava 1157 grammi. La curva delle sue temperature è nella tav. IV n. VI.

Fig. VII. Milza del coniglio n. VII al quale vennero iniettati il 6 maggio 6,4 cent. cub. del liquido proveniente da un acquitrino artificiale preparato con la terra argillosa del Gianicolo (villa Spada). L'animale fu ucciso il 20 maggio; pesava allora 1965 grammi. La curva delle sue temperature si vede nella tav. III n. VII.

Fig. VIII. Milza del coniglio n. VIII al quale vennero iniettati il 6 maggio 6,4 cent. cub. del liquido proveniente da un acquitrino artificiale preparato con la terra ricca di humus del giardino di villa Spada. Il 16 maggio vennero iniettati a questo coniglio altri 6,4 cent. cub. del liquido ottenuto da un acquitrino artificiale, preparato colla terra di un acquitrino posto sull'alto di una collina della Valchetta (vedi illustrazione delle fig. XI e XIII); dopo aver passato questo liquido a traverso un

doppio filtro di carta svedese. L'animale venne ucciso il 20 maggio: esso pesava allora, dopo un parto avuto il giorno innanzi, 1719 grammi. La curva delle sue temperature si vede nella tav. III n. VIII.

Fig. IX. Milza del coniglio n. IX al quale venne iniettato il 9 maggio 1,04 cent. cub. del liquido di una cultura in vaso aperto del limo del Caprolace, in gelatina di pesce. L'animale venne ucciso il 21 maggio: pesava allora 1596 grammi. La curva delle sue temperature si vede nella tav. IV n. IX.

Fig. X. Milza del coniglio n. X al quale vennero iniettati il 9 maggio 3,2 cent. cub. della stessa cultura, mantenuta in vaso chiuso alla lampada. L'animale fu ucciso il 21 maggio: pesava allora 1847 grammi. La curva delle sue temperature si vede nella tav. IV n. X.

Fig. XI. Milza del coniglio n. XI il quale entrò nel laboratorio già ammalato di setticemia in seguito ad un ascesso nella regione sotto-mascellare. Questo animale non fu adoperato in alcuna ricerca e venne ucciso il 20 maggio: pesava allora 2655 grammi. La curva delle sue temperature si vede nella tav. IV n. XI.

Fig. XII. Milza del coniglio n. XII al quale vennero iniettati il 14 maggio 6,4 cent. cub. di un liquido ottenuto mescolando a parti uguali l'acqua Marcia e la terra di un acquitrino artificiale, preparato colla terra di un acquitrino prossimo al Casale della Valchetta. Il 16 maggio vennero iniettati all'animale altri 6,4 cent. cub. di un liquido preparato nella stessa guisa, colla terra di un acquitrino posto in vicinanza della cima di una collina della Valchetta: la mattina del 17 questa iniezione venne ripetuta, e la notte del 17 al 18 l'animale morì. Pesava poco prima della morte 2150 grammi. La curva delle sue temperature si vede nella tav. V n. XII.

Fig. XIII. Milza del coniglio n. XIII al quale la mattina del 14 maggio vennero iniettati 6,4 cent. cub. di un liquido ottenuto mescolando a parti uguali l'acqua Marcia e la terra di un acquitrino artificiale, preparato colla terra presa da un acquitrino posto in vicinanza della cima di un colle alla Valchetta. L'animale fu trovato morto 24 ore dopo: l'ultima volta che fu pesato, il suo peso era di 1481 grammi. La curva delle sue temperature si vede nella tav. V, n. XIII.

Fig. XIV. Milza del coniglio n. XIV al quale vennero iniettati il 14 maggio 6,4 cent. cubi di un liquido ottenuto mescolando a parti uguali l'acqua Marcia e la terra di un acquitrino artificiale preparato col suolo recentemente arato di un campo della Valchetta. L'animale venne ucciso la mattina del 21: pesava allora 1373 grammi. La curva delle sue temperature si trova nella tav. V, n. XIV.

Fig. XV e XVI. Milze dei conigli n. XV e XVI ai quali vennero iniettati la mattina del 18 maggio 6,4 cent. cub. di una miscela a parti uguali di acqua Marcia e della terra proveniente direttamente da una carciofaia della Valchetta. Al n. XV fu iniettato questo liquido, dopo averlo passato per un doppio filtro di carta svedese. Ambedue gli animali furono uccisi il 21 maggio: il n. XV pesava allora 1690, il n. XVI 1890 grammi. Le curve delle loro temperature si trovano nella tav. V, n. XV e XVI.

Tavola II.

Bacillus malariae. I primi gradi dello sviluppo sono rappresentati nella incisione intercalata nella pag. 60 del testo.

Fig. 7. Filamenti omogenei tortuosi o piegati ad ansa, trovati il 15 aprile in una cultura del fango del Caprolace preparata colla gelatina l'11 aprile. In *c* si vede un bastoncino che contiene in ciascuna delle sue estremità un granulo lucente.

Fig. 1. Altre forme trovate lo stesso giorno 15 aprile nella medesima cultura. (La differenza della numerazione delle due figure 1 e 7 è dovuta ad un errore del litografo). *a*. Bastoncino omogeneo, senza alcun indizio di divisione. *b*. Bastoncino omogeneo, con divisione trasversale. *d*. Filamento contenente molti granuli brillanti, visto al mezzogiorno del 15 aprile. *d'*. Lo stesso, visto alle due pomeridiane del medesimo giorno. *e*. Cellula fusiforme non appartenente alla serie di sviluppo del bacillo. *f*. Piccolo bastoncino con due granuli terminali ed uno mediano.

Fig. 2. Filamenti articolati, alcuni articoli dei quali contengono un protoplasma omogeneo, altri un nucleo mediano parietale, altri due nuclei terminali, altri infine un nucleo mediano e due terminali. Forme trovate il 17 aprile nella medesima cultura, mantenuta in una camera ad aria microscopica, e vedute coll'obbiettivo $\frac{1}{6}$ di pollice di Zeiss (immersione all'olio). La figura più piccola è vista coll'oculare n. 0, le due più grandi coll'oculare n. IV.

Fig. 3. Filamenti articolati, a protoplasma omogeneo, visti sull'orlo della medesima cultura il 17 aprile col $\frac{1}{2}$ di pollice di Zeiss e l'oculare n. II.

Fig. 6. Gli stessi filamenti, disposti a gruppi, visti nella medesima cultura microscopica il giorno 26 aprile coll'obiettivo E di Zeiss e l'oculare n. II. Il fascio *b* qui rappresentato partiva dall'orlo della camera ad aria *a* e si distendeva a ventaglio verso il centro del preparato.

Fig. 4. *a*. Bacillo contenente due spore terminali. *b*. Spore ovali libere contenute in un coagulo di linfa. *c*. Cellula linfatica. Forme viste il 22 aprile nella camera ad aria microscopica n. 7, dove da 24 ore era stata posta in cultura la linfa del coniglio n. I.

Fig. 5. Fascicoli di filamenti omogenei ed articolati, incrociati in vari sensi, osservati nella stessa cultura il giorno 23 aprile.

Fig. 8. Forme osservate in una cultura dei saggi d'aria di Ninfa e di Fogliano in urina, ed in una cultura del limo del Caprolacc nella colla di pesce. Le figure sono state disegnate come si vedevano coll'obiettivo $\frac{1}{2}$ di pollice e l'oculare n. IV di Zeiss, *a. a. a.* Filamenti articolati ripieni di piccoli granuli brillanti. *b*. Divisione delle masse granulose omogenee contenute entro gli articoli. *c. d.* Primi indizi di questa divisione.

Tavole III, IV, V.

Curve delle temperature di tutti gli animali di prova. I pesi dell'animale, in grammi, sono notati al disotto della linea ove si trovano le indicazioni dei giorni dell'osservazione. Accanto al numero di ciascuna curva, identico a quello dell'animale di prova, è registrata la provenienza della materia adoperata per procurargli la infezione, ovvero (nelle curve n. 17 e 18) la natura della malattia spontaneamente sviluppatasi nell'animale. L'uccisione dell'animale è indicata col segno \rightarrow : la morte naturale col segno $\#$.

La **tavola III** contiene le curve delle temperature dei conigli n.¹ I, II, III, IV, V, VII ed VIII.

La **tavola IV** quelle dei conigli n.¹ IX, X, VI ed XI.

La **tavola V** quelle dei conigli n.¹ XII, XIII, XIV, XV, XVI, XIX, e XX.

Le indicazioni relative alle operazioni eseguite su questi animali, (ad eccezione di quelle relative ai n.¹ XIX e XX) si trovano nelle illustrazioni della tav. I dove sono riprodotte le stampe naturali delle rispettive milze. In quella tavola non figurano le milze dei conigli n.¹ XIX e XX, perchè essa era già allestita quando, posteriormente alla presentazione di questa Memoria all'Accademia, vennero fatte su questi due animali in Praga le ricerche da noi riferite a pag. 53.



