

23  
V. M. B. 76 / 33  
DOTT. PERICLE POZZILLI

# Azione dei leucociti sul destino dei microbi infettivi nell'organismo vivente

Estratto dalla *Rivista Ospedaliera* (Sezione scientifica) anno 1916



ROMA  
TIPOGRAFIA NAZIONALE BERTERO  
Via Umbria, 27  
—  
1916

DOTT. PERICLE POZZILLI

# Azione dei leucociti sul destino dei microbi infettivi nell'organismo vivente

---

Estratto dalla *Rivista Ospedaliera* (Sezione scientifica) anno 1916

---

ROMA  
TIPOGRAFIA NAZIONALE BERTERO  
Via Umbria, 27

1916





## **Azione dei leucociti sul destino dei microbi infettivi nell'organismo vivente.**

per il dott. PERICLE POZZILLI.

È generalmente ritenuto che i batteri, ove non vengano immessi direttamente nel sangue ma penetrino per qualsiasi altra porta d'entrata nell'organismo, percorrano in un primo tempo le vie linfatiche dagli spazi linfatici interstiziali dei tessuti ai tronchi maggiori, e vengano da ultimo versati nel torrente sanguigno che diviene allora la via di disseminazione dei medesimi anche negli organismi più lontani.

Non l'inseguiremo con un minuto esame nel primo tratto del loro percorso, poichè a noi qui interessa soprattutto determinare quale sia il loro ulteriore destino e cioè la via che battono dal sangue fino agli organi, e se successivamente abbandonano questi per essere eliminati all'esterno, ovvero trovino quivi, nei casi favorevoli, la loro tomba. E' quindi opportuno, pel nostro studio, prendere le mosse dall'inoculazione diretta dei microbi nel sangue.

Se, pungendo una vena, si immette nel circolo un numero determinato di batteri, poi, trascorsi alcuni minuti, si semina il sangue su terreni di coltura allo scopo di ricercarvi di bel nuovo i germi, se ne rinviene soltanto una parte assai limitata in confronto della quantità iniettata.

I primi ad osservare la rapida scomparsa dal sangue dei germi iniettativi furono Traube e Gschejden nel 1874 (*Berl. Klin. W.* p. 467); essi attribuiscono all'ossigeno l'azione antibatterica.

Watson-Cheyne (London 1879) iniettando al coniglio emulsioni batteriche in quantità di un quarto-tre quarti di coltura, ne constatò la scomparsa dal sangue e dagli organi se l'animale era sano; negli animali malati per avvelenamento cronico da fosforo, non scomparivano od almeno non nelle stesse proporzioni come nei sani.

Fodor (*Deutsche med. W.* 1885 n. 95 - 1887, n. 34) constatò la scomparsa dal sangue di grandi quantità di batteri (50-200 milioni), d'ordinario già

4-8 ore dopo che li aveva iniettati ai conigli. Egli ne ascrive la morte alle proprietà battericide dei liquidi dell'organismo.

Wyssokowitsch (*Zeitschrift f. Hyg.* vol. I, 1886) iniettava nelle vene da 1-8 a 12 cmc. di emulsione contenenti 20-40 milioni di batteri per ogni cmc. Sia che si trattasse di batteri saprofiti o di batteri patogeni, egli ne osservava nella maggior parte dei casi la completa scomparsa dal sangue al più tardi 3-4 ore dopo; peraltro iniettando dosi eccessive la scomparsa era meno rapida e meno completa.

Wyssokowitsch rinveniva i microbi scomparsi dal sangue, accumulati nel fegato, nella milza, nel midollo osseo, ecc. onde suppose che grazie al rallentamento della corrente sanguigna, si depositassero meccanicamente in questi organi come su di un filtro e venissero poi quivi presi dalle cellule fagocitarie, specie dagli endoteli, come pure dalle cellule connettivali; ma non trovò che fossero inglobati dai leucociti. Ivi, secondo l'A. essi vengono distrutti o vincono, in tal caso si formano focolai morbosi, ove i batteri si moltiplicano e quindi passano nuovamente nel sangue anche in gran numero. Wyssokowitsch esclude che i batteri, in condizioni fisiologiche, vengano eliminati dai reni o da altri organi escretori.

Opitz (*Zeitschrift f. Hyg.*, 1898), su dieci milioni di batteri iniettati nel sangue, ne ritrovò 20 minuti più tardi soltanto 9000.

Werigo (*Ann. Pasteur*, 1892) dà ragione della rapida scomparsa dei batteri iniettati nel sangue, ammettendo che una parte dei microbi venga inglobata direttamente dalle cellule endoteliali del fegato al loro passaggio nei capillari di quest'organo, non che dalle cellule della polpa splenica; un'altra parte è incorporata dai leucociti del sangue. Questi però, dopo aver inglobato le materie iniettate, si arresterebbero negli organi e soprattutto nel fegato, ove entrerebbero in intimo rapporto coi processi protoplasmatici delle cellule endoteliali dei capillari; trasmetterebbero a queste le sostanze inglobate, e sbarazzati così del loro carico, abbandonerebbero l'endotelio sprigionandosi dai prolungamenti protoplasmatici e rientrerebbero nella circolazione generale.

Per Metschnikoff, come è risaputo, i micro-organismi scompaiono perchè vengono inghiottiti e d'ordinario rapidamente digeriti dai microfagi.

Dai citati lavori emerge che il fatto indubitato della rapida scomparsa dal torrente circolatorio dei microbi iniettativi non trova presso i vari autori un'interpretazione concorde.

L'azione battericida degli umori — la cui importanza del resto in questi ultimi tempi va sempre più cedendo di fronte alla difesa fagocitaria — se pur può rendere innocuo un numero limitato di germi, non è d'ordinario così energica e pronta da fornire ragione sufficiente della rapidità con cui ingenti masse di batteri scompaiono dal sangue già in soli 5-20 minuti.

D'altro canto è ormai fuor di dubbio che i batteri, comunque penetrati nell'organismo, e tanto più se immessi direttamente nel sangue, non restano

a lungo liberi; ma quali elementi eterogenei, vengono subitamente presi dai fagociti ed inghiottiti: e per tal modo sottratti a qualsiasi azione antibatterica dei succhi del corpo.

L'emigrazione dei globuli bianchi fuori del circolo non è più oggi considerata soltanto un fenomeno patologico; ma si sa che i l. migrano anche in condizioni fisiologiche attraverso tutti i vasi dell'organismo e attraverso le membrane organiche, le sierose e le mucose, e che i l. che hanno inghiottito sostanze eterogenee inerti emigrano a preferenza dei leucociti vuoti, abbandonando il circolo in condizioni perfettamente normali (Siebel).

Si comportano allo stesso modo i leucociti contenenti batteri e possono questi trasportare i batteri inghiottiti fuori dei vasi e disseminarli viventi nei vari organi o tessuti?

A questo concetto se alcuni autori accedono, altri si oppongono; citiamo fra i più recenti il Pawlowsky (*Zeitschr f. Hyg.*, 1900) il quale nega che il trasporto dei microbi viventi dal luogo d'infezione e dal sangue si faccia a mezzo di leucociti, poichè egli considera la fagocitosi un fenomeno subordinato alle proprietà chimiche dei succhi dell'organismo e non si eserciterebbe, a suo vedere, che solo su quei microbi che furono già debilitati dall'azione di detti succhi.

Particolarmente poi vi si oppone il Metschnikoff che ascrive ai leucociti un'azione puramente difensiva e quindi direttamente distruttiva dei microbi invasori.

A ciò peraltro non si può sottoscrivere: il pronto allontanamento dei microbi dal sangue è al contrario da ritenere come parte essenziale del compito dei leucociti, l'atto più immediato dopo compiuto il fagocitamento. L'accertare quindi sperimentalmente il fatto che i l. sono in grado di trasportare da un luogo all'altro attraverso i vasi ed i tessuti, microbi vivi e virulenti ci è parso indispensabile a ben intendere svariati fenomeni, che si osservano nel decorso delle infezioni; all'uopo abbiamo istituito le ricerche seguenti:

#### ESPERIENZE.

A conigli del peso di oltre 1000=1500 grammi si iniettava nel peritoneo del brodo o dell'aleuronato sterile allo scopo di provocare un essudato. Mezza ora o 2 ore più tardi venivano inoculati nelle vene auricolari del medesimo emulsioni Na. Cl. di patine recenti (di 24 ore) di batteri coltivati in agar, in dose da un mezzo ad 1 patina.

Trascorse 6-18 ore dall'inoculazione si sacrificava l'animale dissanguandolo, si rasava poi l'addome, si lavava con sublimato e se ne incideva il rivestimento cutaneo. Cauterizzate successivamente con un ferro rovente

le pareti sottostanti, si praticava con accurata asepsi un'apertura, dalla quale a mezzo di una pipetta smussa si aspirava l'essudato. Una parte di questo veniva seminato in terreno di coltura, e parte, disteso sui coprioggetti, si sottoponeva, previa colorazione, all'esame microscopico.

Gli esperimenti, che non riferisco — per brevità — nei particolari, hanno mostrato che dal sangue, ove si erano iniettati, compaiono nell'essudato peritoneale, al pari delle particelle che non han vita (granuli di carminio), anche i microbi vivi e virulenti e tanto quelli fra essi che sono dotati di motilità propria (colera, tifo) quanto quelli affatto immobili (stafilococco p. aureo, bac. tubercolari vivi e morti), come pure microbi non patogeni (*sarcina lutea*, prodigioso).

Non può sorgere dubbio che il trasporto delle varie specie di batteri nell'essudato attraverso i capillari e la membrana peritoneale non sia avvenuto, come pel carminio, per opera delle cellule migranti, poichè l'irritamento portato nel peritoneo dal brodo o dall'aleuronato che vi si inietta è minimo, e se atto a provocare una migrazione (iperdiapedesi) dei gl. b. non altera anatomicamente le pareti vasali; d'altro canto non esistevano nel peritoneo lesioni visibili, nè tracce di emorragie.

L'azione dannosa, che i batteri fagocitati spesso esercitano sulla cellula non fanno che affrettarne il disfacimento, quindi il reperto di pochi batteri liberi nell'essudato, non autorizza a concludere che essi vi sieno emigrati spontaneamente.

La migrazione spontanea dei microbi infettivi attraverso le membrane anatomicamente integre dell'organismo fu giustamente negata già da Wyssokowitsch. Mal si comprende come potrebbe aver luogo una diapedesi attiva di microbi attraverso le membrane ed i tessuti; se fra essi ve ne hanno di quelli provvisti di organi di moto, flagelli e ciglia, che loro permettono di avanzare, moltissimi altri sono affatto immobili; nessuno poi a quanto si sa ha la proprietà di emettere processi ameboidi atti ad infiltrarsi fra le cellule e a discostarle per aprirsi un passaggio, anzi la più parte sono rigidi ed a volte circondati da capsula, che ne aumenta ancora il volume; in nessun caso può riconoscersi al loro corpo la plasticità e la contrattilità che è caratteristica del protoplasma delle cellule bianche del sangue. A queste va riconosciuta come esclusiva la facoltà di migrare attivamente attraverso i tessuti e giova ricordare che le stesse piastrine, elementi molto più piccoli dei leucociti, le quali facilmente acquistano la proprietà di aderire ai tessuti, non riescono mai (*Lawdoswski*), ad attraversare le pareti integre dei vasi.

Ma a prescindere interamente da siffatte considerazioni, v'ha pur sempre un'altra circostanza che impedisce ai batteri mobili o non mobili di esercitare una migrazione attiva o di essere trasportati passivamente da correnti liquide attraverso le membrane ed i vasi a parete integra, e tale circostanza è nel fatto che i microbi nell'organismo e soprattutto nel sangue, non restano

allo stato libero; ma cadono con estrema rapidità prigionieri dei fagociti, particolarmente delle cellule migranti (Werigo).

I batteri non circolano liberi nel sangue se non quando, moltiplicati e cresciuti straordinariamente in numero, han preso il sopravvento sui leucociti. Ma allora il processo d'infezione è d'ordinario molto avanzato e nei vari organi e tessuti si son prodotte lesioni più o meno notevoli ed estese per cui vien meno ogni argine alla diffusione dei germi infettivi nell'organismo. Evidentemente non sono questi i casi da prendere a norma; finchè l'azione fagocitaria è sufficiente di fronte alla moltitudine dei batteri invasori, essi vengono lasciati liberi a circolare nei succhi del corpo.

Le medesime nostre ricerche mentre eliminano qualsiasi dubbio sulla facoltà delle cellule ameboidi di trasportare attraverso i vasi e le membrane batteri viventi, dimostrano ancora un fatto notevole, e cioè che i germi trasportati dai leucociti fuori dal circolo, non soltanto sono vivi, ma conservano altresì la loro virulenza anche quando l'animale inoculato era immune.

I fatti addotti autorizzano a concludere che il processo di eliminazione dei batteri dal sangue in nulla diversifica da quello seguito per le particelle inorganiche (carminio, indaco, ecc.). Una minor parte dei germi inoculati è trattenuta dagli endoteli dei capillari, in particolare da quelli del fegato, che prontamente passano in istato di attività, nonchè dalle cellule autoctone della polpa splenica e del mid. osseo; ma la gran maggioranza di essi viene portata fuori dai vasi dalle cellule migranti le quali alla lor volta scompaiono dal circolo, siccome indica la fase leucopenica che costantemente segue alla inoculazione di sostanze eterogenee nelle vene.

Queste cellule irritate dagli stessi microbi che hanno incorporato cessano subito dal circolare libere nel torrente sanguigno e vanno ad aderire alle pareti dei capillari; ciò spiega come Wyssokowisch, Fodor, Nuttal ed altri non riuscissero a rinvenire nel sangue circolante cellule bianche cariche di batteri.

Susseguentemente i fagociti traversano la parete vasale traendo seco i batteri inclusi, e così li eliminano dal sangue.

Anche nelle fasi susseguenti alla fuoriuscita dai vasi le cellule ameboidi si comportano alla stessa maniera sia che gli elementi corpuscolari di cui si sono impossessate, constino di sostanze inorganiche o di microbi. Le differenze nel destino ultimo dipendono dalla diversa natura di queste due specie di elementi inglobati, su cui avremo occasione d'intrattenerci in seguito.

Volendo seguire il destino ultimo delle sostanze inorganiche pervenute in circolo o trasportate dai globuli bianchi fuori dei vasi nel modo che più sopra si è descritto, vediamo che esse vengono variamente distribuite nei diversi tessuti e ciò verosimilmente perchè la irritabilità degli endoteli, la struttura e la permeabilità dei capillari presenta differenze nei vari organi.

A tal proposito va ricordato che il Connheim nelle sue lezioni di patologia gen. (a pag. 203 della seconda traduzione italiana) parla della possi-

bilità che « in certi organi i vasi sieno fin dapprima disposti ad un trasudamento fisiologico dei corpuscoli. Per le glandole linfatiche, per la milza, per il midollo delle ossa ed anche per il fegato questa ipotesi non mi sembra esagerata ». Del resto è a ritenere che le differenze di distribuzione di cui sopra, possano essere eventualmente determinate anche da flogosi locali dei tessuti o comunque da un qualche irritamento della rete vascolare in alcune regioni del corpo, poichè ove maggiore è lo stimolo ivi è più intensa la diapedesi.

Siebel che nelle sue ricerche adoperò l'indaco, così ne descrive la distribuzione (pag. 516): « Si scorge a prima vista che nel fegato, nelle gl. carotidiche, nei polmoni, nella milza, nel midollo osseo, esiste molto colore, in altri organi, per esempio, i reni, solo ad un più attento esame si riconosce una leggiera colorazione bleu; altri poi, per esempio, i muscoli, la pelle, gli organi genitali, il sistema nervoso, lo stomaco e l'intestino, appaiono all'esame macroscopico assolutamente scolorati ».

Tuttavia dall'esame microscopico risultava che anche questi ultimi contenevano quasi tutti più o meno piccolissime quantità d'indaco.

I granuli d'indaco, di cinabro, ecc., nei vari tessuti, nei quali sono depositati, restano immagazzinati parte nelle cellule migranti, parte in cellule fisse, grandi, che giacciono nel connettivo perivascolare o interstiziale degli organi. Quivi una buona quantità della sostanza colorante rimane per sempre cagionando la colorazione permanente degli organi.

Analogamente alle particelle inorganiche, anche i batteri, una volta portati fuori dei vasi, vengono variamente distribuiti nei diversi organi. A tal punto però ci si imbatte in un argomento, su cui non possiamo esimerci dall'indugiare un istante, in quanto esso appartiene ad uno dei problemi più interessanti e più discussi della patologia, rimasto tuttora insoluto.

#### ELIMINAZIONE DEI MICROBI ALL'ESTERNO DELL'ORGANISMO.

Può aver luogo l'eliminazione dei microbi all'esterno del corpo quando gli organi sono integri ?

Sono nel vero quelli che siffatta facoltà attribuiscono all'attività normale degli organi escretori ?

Può tal processo costituire un mezzo di protezione ?

La questione dell'eliminazione dei batteri all'esterno muove dall'ipotesi che l'organismo si liberi dai germi infettivi così come si sbarazza dei veleni, cioè a mezzo delle varie secrezioni e particolarmente della secrezione urinaria.

Si credeva dapprima che con l'urina si eliminassero soltanto i prodotti solubili disciolti nel plasma, ma poi codesta dottrina rimase scossa dappoi-

vi si rinvennero anche elementi morfologici, cioè particelle insolubili che si trovavano a circolare nel sangue, e d'ordinario i batteri.

Clinicamente è infatti accertato che in molte infezioni generali i germi infettivi circolanti nel sangue vengono eliminati per le urine; per esempio nei processi settico-piemici, nelle endocarditi, nel tifo addominale ed in una lunga serie di altre infezioni (difterite, erisipela, febbre ricorrente ecc.).

Ma anche sperimentalmente si è constatato il passaggio nelle urine di germi poco dopo che erano stati introdotti nel corpo animale, vuoi sotto cute, vuoi direttamente nelle vene.

Grawitz (*Virch. Arch.* vol. 70, 1887) fu il primo a constatare il passaggio di spore di ifomiceti nelle urine dei cani e dei conigli già nel corso delle prime 24 ore dall'inoculazione delle medesime nel sangue; né nell'urina, nè nel tessuto renale apparivano tracce di emazie da far supporre una rottura dei capillari del rene.

Numerosa è la serie degli autori (e per un'estesa bibliografia sull'argomento rimandiamo ai lavori di Pernice e Scagliosi, v. Klecki, Pawlowsky), che successivamente rinvennero nelle urine le più svariate specie di batteri poco dopo averli inoculati agli animali da esperimento; ma le loro vedute sull'interpretazione del fenomeno non sono concordi; essi sono divisi in 2 campi.

Gli uni, fra cui, dopo il Grawitz, ci limitiamo a citare Trambusti e Maffucci (*Riv. int. di med. e chir.* 1886), Biedel e Kraus (*Arch. f. exper. Pathol. u. Scharm.* 1896), Klecki (*idem* 1887), Pawlowsky (*Zeitschr. f. Hyg.* 1900), ritengono che tutti gli elementi estranei pervenuti nel sangue vengano eliminati dall'attività renale e tale eliminazione sarebbe entro la cerchia delle funzioni fisiologiche del rene, al quale quindi spetterebbe un'alta importanza protettiva nelle infezioni.

Gli altri invece, con a capo Wyssokowitsch, (*Zeitschrift f. Hyg.* 1886) — e fra gli italiani Boccardi (*Rif. med.* 1888), Pernici e Scagliosi (*Deutsche med. W.* 1892), Cavazzani (*Centralbl. f. Pathol. u. pathol. Anal.* 1895), ed altri — non accedono a tale veduta.

Wyssokowitsch ed i suoi seguaci ritengono le membrane filtranti impermeabili nello stato normale ai batteri, e sostengono quindi che fino a tanto che i tessuti del rene — come pure quelli del fegato e di altri organi escretori — si mantengono sani, i batteri non passano nel loro secreto.

Secondo questi ultimi osservatori adunque la comparsa dei batteri nelle urine è legata a lesioni o malattie locali dell'apparecchio uro-poietico, rispettivamente nel fegato ecc. o per lo meno a modificazioni sopravvenute nella parete vascolare di detti organi, onde considerano il fenomeno d'ordine patologico.

Senonchè i primi oppongono che la rapidità con cui i microbi possono essere eliminati dall'organismo non sempre consente il tempo necessario allo

svolgersi di una lesione delle membrane e degli organi ed alla formazione in essi di focolai patologici.

A nostro avviso la comparsa dei batteri nelle urine, in cui non sia constatabile la contemporanea eliminazione di albumina, deve far dubitare fortemente della provenienza dei batteri stessi dagli elementi escretori dell'organo renale.

Per quanto riguarda in particolare le ricerche di Biedel e Kraus, di v. Klecki e dello stesso Opitz, v'ha buona ragione di ritenere che i germi, che nelle loro esperienze essi vedevano comparire nelle urine, provenissero non già dai glomeruli nè dagli epiteli dei canalicoli, sibbene dalle vie urinarie inferiori. Tutti i nominati autori infatti raccoglievano l'urina a mezzo di sonde fissate agli ureteri con un atto operatorio che aveva preceduto l'inoculazione dei germi nelle vene. Opitz si mostra convinto che il detto metodo di raccolta delle urine dagli ureteri dia risultati essenzialmente più esatti che non la raccolta diretta dalla vescica con le sonde o post mortem. A lui come ai suoi avversari è sfuggito che un corpo estraneo applicato a permanenza negli ureteri non può non portare in breve una irritazione sulla loro mucosa estremamente delicata e provocare così una essudazione di globuli bianchi.

Ora dappoichè sappiamo che questi, nel migrare, traggono seco i germi inghiottiti, riesce facile spiegarsi la comparsa di microbi nelle urine degli animali sottoposti a quegli esperimenti, anche senza la presenza di emazie che riveli lesioni vasali, e senza la contemporanea presenza di albumina, che per la scarsa quantità dell'essudato può non rendersi dimostrabile.

Ecco pertanto in qual modo va, a parer nostro, chiarito il fatto rimasto inesplicabile a Biedel e Kraus, della differenza che essi ottenevano nei risultati delle loro prime serie di ricerche in confronto della serie seconda, nella quale all'applicazione a permanenza del catetere negli ureteri si era sostituito il sondaggio della vescica ogni 1-2 ore.

In quest'ultimo caso meno facilmente si provocava un'essudazione di globuli bianchi alla superficie della mucosa perchè meno persistente era lo stimolo.

Ci è sembrato fosse non senza interesse porre ben in chiaro questo punto intorno alla maggiore o minore rapidità di eliminazione dei batteri per le urine, perchè esso rappresenta il fulcro delle argomentazioni in prò della eliminazione fisiologica dei batteri dai reni. È ovvio che quei danni che i prodotti tossici dei batteri non riescono a determinare negli elementi escretori del rene nel breve periodo di tempo di sol pochi (3-5-12) minuti, possono invece stabilirsi nel corso di più ore.

Per quanto l'attenzione degli studiosi sia stata finora maggiormente assorbita dal quesito della eliminazione dei batteri per l'urina e per la bile, si è pur indubbiamente constatato che i microrganismi si eliminano all'esterno del corpo animale anche con le feci (Emmerich, Buchner, Trambusti e Maf-

fucci, Pernice e Scagliosi) col muco e lo sputo (Posset, Longard, Scherrington, Pernice e Scagliosi).

Pernice e Scagliosi (*Deutsche med. W.* 1892 — *Ueber die Ausscheidung der Materien aus dem Organismus*), dalle loro estese ricerche con diverse specie di batteri; lo stafilococco p. aureo, il b. piociano, il b. sottile, il m. prodigioso, sono tratti a concludere che detti germi « giungono per molte vie fuori dell'organismo ».

Oltrechè per l'urina e la bile l'eliminazione loro può aver luogo, « anche pel naso, bocca, trachea, stomaco, intestino, utero, mucosa vaginale; essi possono passare anche nel latte e nello sperma; si trovano pure nel liquido essudato dalla pleura, dal peritoneo e nel liquido cerebro spinale ».

Ora, riassumendo l'esame sin qui fatto della questione, si può affermare che un'eliminazione fisiologica dei microbi infettivi abbia luogo in realtà, non già dagli organi a secrezione specifica, sibbene per quelle mucose che sappiamo essere traversabili allo stato normale dalle cellule migranti. Che tuttavia siffatta eliminazione sia così copiosa da assumere importanza protettiva nelle infezioni, non è facile sostenere.

A compiere lo studio del destino ultimo dei microbi penetrati nell'organismo animale resta ancora ad esaminare che cosa avviene dei germi inclusi nei leucociti, che non vengono eliminati per le superfici libere delle mucose all'esterno.

Qui il confronto con le particelle di sostanze coloranti sperimentalmente inoculate non è atto ad illuminare a sufficienza, data la diversa natura di queste particelle inerti e dei micro organismi.

I granuli di carminio, d'indaco, la polvere di carbone ecc. non soggiacciono alla dissoluzione ed al riassorbimento, si comportano passivamente e non recano che ben lieve offesa alle cellule che li hanno inghiottiti; possono quindi rimanere anche permanentemente negli organi come materiale d'ordinario innocuo.

I microbi al contrario nella loro qualità di germi che hanno vita, posseggono funzioni proprie sia pure elementari ma indispensabili alla loro esistenza.

Quanta parte ha propriamente l'opera dei fagociti mobili nella distruzione dei microbi in quelle infezioni che sortono esito favorevole ?

Con l'atto della fagocitosi e cioè dell'inclusione intracellulare, il leucocita pone il germe in condizioni sfavorevoli di sviluppo e di vita, inquantochè gli taglia la via al rifornimento dei materiali nutritivi e dell'ossigeno, indispensabili alle funzioni più elementari della propria esistenza; ciò a prescindere totalmente dall'eventuale possibilità di offese dirette a mezzo di fermenti o dei prodotti del proprio ricambio.

Ma l'energia vitale dei germi è spesso notevole, grande la loro forza di proliferazione, potenti le loro armi di offesa, mentre le cellule migranti essendo elementi già adulti, cui non rimane che un periodo relativamente breve di

vita, nella lotta facilmente si esauriscono, soggiacciono ad alterazioni regressive ed infine soccombono.

Nei singoli casi dipenderà dalla vitalità del germe, dalla durata del suo ciclo di vita, se il suo annientamento precederà quello della cellula o viceversa, e la più o meno lunga resistenza di questa dipenderà anche dal numero dei germi inclusi, le cui energie riunite non possono che maggiormente danneggiarla.

Prescindendo da siffatta evenienza, la morte del leucocita che prima aveva inglobati i germi non significa in ogni caso la vittoria definitiva di questo, poichè se la vita dei singoli elementi leucocitari è effimera, vi ha la possibilità di una rapida sostituzione; caduto un milite, il microbo se ne trova ancora molti altri di fronte più giovani e più vitali, e non solo cellule migranti, di cui la moltitudine degli organi linfoidi sparsi nell'organismo può, sotto l'azione di lievi irritamenti, versare in circolo interi eserciti: ma anche cellule fisse, specialmente dei tessuti mesodermali, i cosiddetti macrofagi di Metschnikoff.

La maggior parte di questi, per es. gli endoteli delle sierose, le cellule connettivali allo stato normale non esercitano affatto o solo assai limitatamente funzioni ameboidi o fagocitarie; essi, di loro natura, non sono così sensibili e conseguentemente non così pronti a reagire agli stimoli come le cellule migranti; ma sotto l'azione continuata degli eccitamenti la loro irritabilità si accresce, e ne svela la reazione, il rigonfiamento del corpo cellulare, l'aumento del numero dei nuclei e la comparsa di figure di cariocinesi.

I macrofagi fissi godono rispetto alle cellule migranti, del vantaggio di una maggior energia vitale, ciò che ebbe a ritenere anche Baumgarten (*Sohresber über die pathog. Mikroorg. I. Jahrgang*, p. 148). Questa maggior energia è conferita ai macrofagi fissi verosimilmente dalla loro connessione con altre cellule.

I macrofagi, quando dagli eccitamenti sono posti in istato di attività, inglobano non soltanto i corpi eterogenei ed i microbi, ma gli stessi microfagi, già prima che cadano in disfaccimento.

Con ogni probabilità dai microfagi alterati e presso a soccombere emanano materiali irritanti, di guisa che il loro contatto stimola fortemente i microfagi che reagiscono fagocitandoli; non si comprenderebbe diversamente come avvenga che gli elementi dei tessuti danneggiati o morti cadano con facilità preda della fagocitosi, mentre le cellule normali non vengono prese dai fagociti.

Se tardo è adunque l'intervento dei macrofagi, in causa della loro più scarsa irritabilità, ad essi però come elementi dotati di maggior resistenza è riserbato il compito di soffocare e distruggere definitivamente i germi infettivi.

IMPORTANZA PROTETTIVA DELLA INCLUSIONE CELLULARE.

A meglio intendere i processi di difesa organica, riesce molto istruttivo lo studio della reazione cellulare di fronte ad elementi abbastanza voluminosi per sfuggire all'inglobamento per parte di una sola cellula ameboide; come si comportano allora i leucociti? Essi isolano del pari detti elementi formando loro attorno degli ammassi circolari.

Ribbert (*Dert. Untergang pathogener Schimmelpilze und Körper Bonn, 1887*), descrive minutamente i fenomeni che seguono alla inoculazione in circolo delle spore di *Aspergillus flavescens*, che per la loro grandezza oppongono un ostacolo meccanico all'inglobamento per parte di un solo leucocita.

Dette spore, sia che pervengano nel fegato, nel polmone, o nei reni, vengono rapidamente circondate dai globuli bianchi, che via via aumentando, già dopo poche ore costituiscono attorno ad esso uno spesso strato; s'addiène così alla formazione di noduli miliari nel cui centro sta la spora.

Questa tenta di proliferare, ma per l'influenza delle masse cellulari, che le impediscono il rifornimento dei mezzi necessari alla vita, se pure riescono a germogliare, non raggiungono che uno sviluppo limitato, incompleto, rudimentale, che ben presto si arresta per dar luogo alla morte della spora.

Anche i leucociti però soggiacciono ben presto ad alterazioni regressive sempre molto evidentemente pronunciate in immediata vicinanza dei miceli proliferanti. Dette alterazioni consistono in una frammentazione progressiva dei nuclei e nella disgregazione del protoplasma che va di pari passo con la comparsa di granuli di grasso.

Dopo 24-48 ore si sostituiscono le cellule fisse dei tessuti, che fondendosi formano delle cellule giganti, nell'interno delle quali le spore vengono completamente uccise, disgregate e riassorbite, fin che ogni traccia ne scompare.

I fatti riferiti dal Ribbert mettono in evidenza tutta l'importanza della inclusione cellulare nella difesa organica.

Ha lo stesso fenomeno dell'inclusione egual importanza nelle infezioni con gli schizomiceti? costituisce l'aumento del numero dei leucociti un momento favorevole per la protezione dell'organismo anche di fronte ai batteri?

Già Denys ed i suoi allievi Haisin ed Havet ebbero a dimostrare che il sangue e gli essudati artificiali sono tanto più fortemente battericidi quanto maggiore è la quantità dei leucociti che contengono.

Jakob (*Zeitschrift f. klin. med.* Vol. 30), inoculando ai conigli sottocute o nelle vene dell'albuminosi, otteneva in primo tempo una ipoleucocitosi, più tardi una iperleucocitosi. Ora, facendo procedere o seguire in tempi diversi l'infezione con pneumococchi e con bacilli della setticemia nei topi, osservò che se l'infezione veniva effettuata nello stadio della ipoleucocitosi, l'animale

deriva sempre più rapidamente dell'animale di controllo. « Per contro era sempre di influenza estremamente favorevole sul decorso della malattia se l'infezione aveva luogo nel tempo della iperleucocitosi o per vero tanto più quanto più questa aumentava ». (p. 472).

L'azione protettiva della presenza di numerosi leucociti contro le infezioni batteriche, raggiunge la massima evidenza negli esperimenti di Issaef sull'aumento artificiale della resistenza naturale.

Issaef (*Zeitschr. f. Hyg.*, 1894), provocava a mezzo dell'inoculazione preventiva di diversi liquidi (siero normale, brodo, urina, tuberculina, soluzione di nucleina al 2 %, soluz. fisiol. di Na Cl.) una fortissima migrazione di leucociti nel cavo peritoneale insieme ad una leucocitosi generale nel sangue. Inoculando dopo ciò nel peritoneo delle cavie dosi più volte mortali di vibrione colerico, le vedeva resistere vittoriosamente all'infezione.

Egual fatto constatò Funck pei bacilli del tifo, e Bordet per gli streptococchi. Questi iniettava nel peritoneo di cavie normali del brodo peptonizzato e nel giorno successivo doppia dose mortale di streptococchi, ma l'animale reso resistente dal preventivo trattamento col brodo non soccombeva alla infezione.

Sarebbe superfluo insistere ulteriormente nel dimostrare la importanza del numero dei leucociti nella protezione contro le infezioni.

Si è oggidi così convinti che producendo una iperleucocitosi si ottiene un aumento della resistenza naturale contro gli agenti infettivi, che non son mancati tentativi per un impiego terapeutico della iperleucocitosi.

Ma l'azione dei leucociti si esplica tutta nell'attività fagocitaria, costituisce questa il solo momento decisivo nella lotta contro i microorganismi?

Secondo Buchner e la sua scuola, l'aumento della resistenza naturale nella iperleucocitosi sarebbe dovuto a ciò che i leucociti cresciuti in numero e sotto l'azione di un modico stimolo segregano maggior quantità di sostanze battericide.

Segnatamente le ricerche di Han avrebbero contribuito a dimostrare che con la iperleucocitosi aumenta anche l'azione battericida del siero libero da cellule. I leucociti quindi, per gli autori suddetti, avrebbero valore soprattutto come produttori di alessine (Alexinspender) le quali esplicherebbero già nel siero la loro azione nociva sui batteri. Senonchè è da notare che in detti essudati mentre da un canto si rinvencono leucociti infarciti di microbi, si può dall'altro constatare che al di fuori delle cellule esistono liberi nel liquido germi viventi.

Senza addentrarci in siffatto argomento che ci porterebbe a varcare i limiti fin da principio tracciati al nostro tema, sia detto in breve che ormai si è d'accordo nell'ammettere che la teoria alessinica non è sufficiente a spiegare l'immunità naturale, anzi Lubarsch non le riconosce alcuna importanza.

Si può anche nell'immunità specifica invocare un più pronto ed efficace intervento di numerose cellule ameboidi, nella difesa dell'organismo minacciato?

L'immunità specifica al presente s'interpreta ammettendo che negli umori del corpo si contengano sostanze antibatteriche specifiche; senonchè, anche concessane l'esistenza, appare in ogni caso poco probabile che dette sostanze battericide diffuse nei succhi abbiano modo di esplicare efficacemente l'azione loro sui microbi, per l'estrema rapidità con cui questi vengono sottratti agli umori e inclusi nelle cellule ameboidi non appena invadono il sangue.

D'altro canto è omai fuori di dubbio che la vera lotta per l'annientamento dei microbi si svolge non già nei liquidi, ma negli organi, nell'intimità dei tessuti, in seno alle cellule che li tengono prigionieri, ed alle quali è necessariamente legata la difesa organica.

Parrebbe pertanto più accettabile l'ipotesi del Metschnikoff e cioè che precisamente gli stessi fagociti, microfagi, o macrofagi siano provvisti nel loro interno di sostanze antibatteriche e di fermenti battericidi, e che queste cellule guadagnino da un'infezione pregressa, quale effetto della immunizzazione, una maggiore energia battericida e digerente mercè cui all'inglobamento seguirebbe la pronta e completa distruzione dei microbi. Ma pur trascurando la circostanza che *in vitro* non emerge una maggiore facoltà di resistenza di questi l. di fronte al germe verso cui l'organismo rimase vittorioso, v'ha un fatto notevolissimo che contrasta con siffatta ipotesi: e cioè risulta dalle ricerche di questi ultimi tempi l'esistenza di un microbismo latente anche in organi apparentemente sani.

Questa latenza nell'organismo vivente di microbi infettivi (che verosimilmente si conservano in punti isolati dei tessuti moltiplicandosi limitatamente e non producendo che solo lievi alterazioni istologiche dei tessuti medesimi) mentre da un canto dimostra come in genere non vi sia bisogno che all'infezione segua necessariamente la malattia quando manchi il concorso di altre cause etiologiche, fa vedere altresì, ed è appunto ciò che qui importa di rilevare, che dopo la guarigione delle malattie microbiche gli agenti infettivi anzichè scomparire dall'organismo che fu malato, possono invece come nel tifo, nella polmonite, nell'influenza, ecc., per non dire della tubercolosi e della sifilide, mantenersi vivi per settimane, mesi ed anni.

Orbene, come conciliare con le azioni batteriche il fatto della sopravvivenza dei germi infettivi nell'organismo anche per assai lungo tempo dopo che la malattia fu superata e che fu conseguita l'immunità?

Molto giustamente Eisenberg (*Centralbl. f. Bakt.*, vol. 45, 1907), osserva: « Se l'immunità battericida è, come si afferma, il principio fondamentale della guarigione spontanea delle malattie infettive, come della immunità di

difficoltà tecniche poichè le vene auricolari del coniglio, l'animale che più si presta per dette ricerche, negli stadi di depressa circolazione e di ischemia non lasciano fuoriuscire affatto o solo scarsissima quantità di sangue stagnante, in cui la proporzione dei globuli bianchi è alterata e per lo più notevolmente accresciuta.

Ciò nonostante prendendo in esame le suddette tabelle si scorge che la reazione leucocitaria degli organi linfoidi è più pronta nell'animale immunizzato di quello che nell'animale nuovo; ciò emerge dalle esperienze di confronto fatte inoculando a due diversi animali l'uno immunizzato, l'altro normale, egual dose di una stessa emulsione batterica uccisa od attenuata a un dato grado.

Le varie nostre esperienze non ci permettono di accogliere incondizionatamente il concetto che negli animali immunizzati la fase leucopenica susseguente all'inoculazione resti soppressa o considerevolmente diminuita in intensità; ciò può accadere quando le inoculazioni si ripetono a brevi intervalli di tempo; ma quando tra un'inoculazione e l'altra si lasciano trascorrere periodi adeguati di pausa, per guisa che la reazione degli organi linfoidi provocata dalla prima inoculazione sia già cessata al momento in cui si procede all'inoculazione successiva, la cifra dei l. suole allora abbassarsi come negli animali nuovi, e di ciò le nostre tabelle danno numerose prove.

Siffatta questione è del resto assai complessa; non sono senza influenza sul fenomeno la quantità dei germi inoculati, il numero dei leucociti esistenti in circolo, allorchè si esegue l'inoculazione, ed infine il momento in cui quella cade, se nel periodo di ascesa o di discesa della curva leucocitaria, quando l'animale ancora presenta notevoli oscillazioni della medesima.

Di più per chi si limita a fuggevoli osservazioni, la fase leucopenica può essere dissimulata da un fenomeno che ci è accaduto ripetute volte di osservare, quasi sempre negli animali immunizzati. In detti animali alla fase immediata di ipoleucocitosi, quale si riscontrava per esempio, circa 5 minuti dopo l'inoculazione, spesso seguiva, e si osservava infatti alla distanza di 20-30 m. un relativo aumento nella cifra dei leucociti del sangue, poi il loro numero tornava a ridiscendere.

Ciò risulta abbastanza evidente nella tabella A II e III e dalla tabella C III, ma il fenomeno di una iperleucocitosi transitoria poco dopo l'inoculazione assume proporzioni notevoli nell'esperienza (F.) appresso riferita. (Vedi tav. F.)

In tale esperienza era stata inoculata a tre diversi animali un'istessa dose di un'emulsione di stafilococco piog. aureo, fatta di due diverse culture l'una giovane di 34 ore, l'altra di 19 giorni. Prima d'inocularla l'emulsione era stata esposta per circa un'ora a temp. poco sopra i 60 C. senza mai oltrepassare i 64 C. I germi come mostrarono le prove colturali, non erano rimasti uccisi.

Verosimilmente neppure i loro prodotti tossici erano stati completamente distrutti, e questi, sia pure in piccola quantità, con la loro rapida diffusione nell'organismo avevano portato un irritamento immediato negli organi ematopoietici su quelle cellule già mature o quasi, ivi esistenti, le quali non mancavano che dello stimolo che ne eccitasse la contrattilità, per passare prontamente in circolo.

Ma è notevole in detta esperienza il fatto che dei tre animali inoculati presentarono una iperleucocitosi transitoria di gran lunga più accentuata (fino ad attingere le cifre di 24,000 e 24,600 leucociti) i due conigli già immunizzati verso i batteri (coniglio f. imm. verso lo stafil. e coniglio b. imm. verso il tifo) mentre nell'animale normale se ne constatò appena un accenno, il che conforta l'ipotesi che la sensibilità degli organi linfoidi agli stimoli sia nei primi aumentata, e nel tempo stesso fa pensare che negli stessi organi linfoidi degli animali immunizzati le cellule in preparazione compiano più rapidamente le loro ultime fasi di sviluppo per tosto passare in circolo.

E' egli esatto che il sangue dell'animale immunizzato sia più ricco di leucociti, che cioè vi sia persistente un certo grado di iperleucocitosi?

Nel corso dell'immunizzazione dei nostri animali ogni qual volta si doveva procedere a nuove inoculazioni non si è mai trascurato di accertarsi della cifra dei leucociti già esistenti in circolo. I valori ottenuti da queste enumerazioni sono riuniti nel seguente quadro:

**Numerazone di leucociti in conigli immunizzati a piú giorni di distanza dall'inoculazione di germi morti.**

|                                      | Leucociti | Giorni Intervallo | Leucociti                      | Giorni Intervallo | Leucociti | Giorni Intervallo | Leucociti | Giorni Intervallo | Leucociti | Giorni Intervallo | Leucociti | Giorni Intervallo |
|--------------------------------------|-----------|-------------------|--------------------------------|-------------------|-----------|-------------------|-----------|-------------------|-----------|-------------------|-----------|-------------------|
| Coniglio <i>a.</i> imm. colera . . . | 13.000    | 10                | 12.400                         | 9                 | 9.600     | ..                | ..        | ..                | ..        | ..                | ..        | ..                |
| Id. <i>b.</i> id. tifo . . .         | 15.000    | 10                | 13.200                         | 6                 | 13.800    | 13                | 12.800    | 15                | 9.400     | ..                | ..        | ..                |
| Id. <i>c.</i> id. tifo . . .         | 10.000    | 9                 | 10.200                         | 9                 | 15.000    | 13                | 8.400     | 10                | 10.000    | 13                | 11.300    | 14                |
| Id. <i>d.</i> id. tifo . . .         | 8.600     | 14                | 10.000                         | 14                | 10.600    | ..                | ..        | ..                | ..        | ..                | ..        | 15                |
| Id. <i>e.</i> id. stat. p a. . .     | 15.000    | 8                 | 10.800                         | 8                 | 10.600    | 9                 | 10.000    | ..                | ..        | ..                | ..        | ..                |
| Id. <i>f.</i> id. colera . . .       | 8.000     | 8                 | 7.800                          | 14                | 9.800     | ..                | ..        | ..                | ..        | ..                | ..        | ..                |
| Id. <i>g.</i> id. colera . . .       | 9.000     | 6                 | 10.400                         | 13                | ..        | ..                | ..        | ..                | ..        | ..                | ..        | ..                |
| Id. <i>h.</i> id. streptoc. . .      | 10.400    | 10                | 12.000                         | 6                 | 13.200    | ..                | ..        | ..                | ..        | ..                | ..        | ..                |
| Id. <i>i.</i> id. coli . . .         | 13.800    | 5                 | 13.600<br>bacilli<br>attenuati | 11                | 21.000    | ..                | ..        | ..                | ..        | ..                | ..        | ..                |

A meglio apprezzarne i risultati è uopo ricordare che i limiti entro cui oscilla la cifra normale dei l. nel coniglio sono segnati da Goldscheider e Jakob fra gli 8,000 e 14,000; ma prendendo il sangue dalle vene periferiche dell'orecchio quest'ultima cifra può elevarsi, secondo abbiamo constatato, a 15,000.

Si scorge pertanto dal quadro che sta dinanzi, come il numero dei leucociti in seguito ad inoculazione di batteri morti, sia rientrato già nei limiti del normale anche prima che siano trascorsi otto giorni dall'inoculazione. Naturalmente quando si inoculano germi viventi, il turbamento della formula leucocitaria del sangue dura più a lungo e per un tempo indeterminato fino a quando cioè l'infezione sarà completamente spenta.

La ragione della divergenza di questi risultati da quelli a cui giunsero altri A. A. (Ewerard, Denoor, Massart), è nel fatto che essi non hanno protratto le loro ricerche oltre 104 ore dall'inoculazione, mentre che la reazione degli organi linfoidi anche allorchè si inoculano germi morti può durare con notevoli oscillazioni, per più lungo tempo.

L'irregolare avvicinarsi delle oscillazioni della formula leucocitaria non consente di raccogliere dati esattamente paragonabili da permettere un giudizio esatto sull'intensità che la reazione assume nel loro decorso nell'animale precedentemente immunizzato ed in quello normale.

Peraltro dalle tabelle *D* ed *E* sembrerebbe che nell'animale immunizzato la reazione oltre ad essere più pronta sia anche più intensa.

Un ultimo quesito aveva interessato la nostra curiosità e cioè quello di vedere quale, di fronte alla inoculazione di un dato germe, fosse il comportamento degli organi linfoidi di un animale immunizzato verso microbi di specie diversa.

Le ricerche tentate in merito a siffatta questione sono riferite nelle tabelle *F*, *G*, *H*.

Dalle medesime non sembrano emergere differenze notevoli, cosicchè parrebbe doversi escludere che la reazione di detti organi abbia, rispetto ai diversi batteri, un carattere strettamente specifico.

Ma non oseremo formulare in merito una vera conclusione oltrechè pel piccolo numero delle esperienze di cui disponiamo, anche per ciò che i batteri previamente uccisi non sono forse i più adatti a decidere della questione, le sostanze proteiche dei loro corpi non sono ben definite e verosimilmente ve ne possono essere nei diversi batteri di quelle ad azione eguale ed analoga. Tale studio va pertanto ripreso.

Nel riferire i risultati delle esperienze sulla reazione<sup>m</sup> leucocitaria degli organi linfoidi alla inoculazione dei batteri nel sangue noi ci siamo attenuti fedelmente ai fatti osservati.

Dall'insieme di dette ricerche ci sembra si possa concludere che l'organismo immunizzato risponde all'immissione dei batteri in circolo con una reazione leucocitaria più pronta.

È ovvio che quanto maggiore è la quantità delle cellule, tanto più agevole deve loro riuscire di avere ragione dei batteri, in quanto che contrapponendosi ad essi numero a numero, potranno frazionarli e ripartirli in guisa che un solo elemento cellulare non abbia a trovarsi di contro che un unico o sol pochi germi; e ove avvenga che la virulenza della preda porti la cellula che l'ha ghermita a soccombere, nulla resterà compromesso della difesa quando vi sia la possibilità di una pronta e facile sostituzione dell'elemento caduto.

Dunque la potenzialità a riccamente proliferare degli organi linfoidi, la loro attitudine a fornire in tempo utile cellule ameboidi in numero adeguato al bisogno si da tener fronte all'attività di sviluppo dei germi, costituisce un momento essenziale nella difesa dell'organismo contro gli agenti infettivi.

Lo studio della immunità cellulare non deve perciò rimanere troppo circoscritto, come lo fu finora, all'opera prestata dalle singole cellule ameboidi, ma deve quindi innanzi volgersi più da vicino alle reazioni degli organi linfoidi, di cui l'organismo ha grande dovizia e la cui attività e sensibilità può venire esaltata, oltre che dalle buone condizioni di nutrizione e di igiene, anche, a quanto sembra, dall'educazione agli stimoli emananti dai batteri.

Il Metschnikoff, l'eminente fondatore della teoria fagocitaria, se ebbe il merito di svelare i preziosi, inestimabili servizi che le cellule ameboidi rendono all'organismo nella difesa contro le malattie infettive, si è lasciato troppo trasportare dall'entusiasmo per questi meravigliosi elementi ed esaltandone la virtù ed idealizzandone l'opera, li ha in certo qual modo circondati di un'aureola poetica che non poteva non ingenerare diffidenza.

Ma spogliandola di ciò che l'avvolge in un velo di mistero, la dottrina della difesa fagocitaria non che perdere di valore, guadagna e si afferma.

Riconoscendo all'attività delle cellule ameboidi il compito di esplicitare un'azione efficace contro lo sviluppo e per quanto indirettamente, anche contro la vitalità dei microbi, e riserbando ai processi biochimici l'ufficio di produrre anticorpi deputati non ad uccidere i germi, ma unicamente a neutralizzarne i prodotti tossici, ed a privarli per tal modo dei loro mezzi di offesa, si renderebbe perfettamente comprensibile quanto finora rimase inesplicito, e cioè come accada che si ottenga sovente la guarigione della malattia infettiva senza che scompaiano i batteri dall'organismo, od in altri termini come si possa conseguire l'immunità contro la malattia medesima, ma non contro l'agente capace di provocarla.

*Roma, settembre 1916.*

TABELLA A.

Coniglio *a* - peso kgr. 1.220.

Si immunizza verso il vibrione del colera asiatico.

| Ore di distanza dall'inoculazione | I<br>Giugno 26<br>Ora dell'inoculazione<br>12.10   | II<br>Luglio 7<br>Ora dell'inoculazione<br>11.45         | III<br>Luglio 16<br>Ora dell'inoculazione<br>11.20                        |
|-----------------------------------|--|--|---|
|                                   | Prima dell'inoculazione . . . . .                  | 13.000   | 15.000  |
| Inoculazione . . . . .            | $\frac{3}{5}$ patina<br>esposta p. 1 h.<br>a 65 C° | $\frac{3}{4}$ patina<br>esposta p. 1 h.<br>circa a 65 C° | $\frac{1}{2}$ patina<br>attenuata con<br>riscaldamento<br>intorno a 60 C° |
| Dopo minuti 5- 8 . . . . .        | 2.800  | 5.200  | 5.800   |
| Id. 20-25 . . . . .               | 3.600  | 9.000  | 10.000  |
| Id. 45 . . . . .                  | ..   | ..   | 5.600   |
| Dopo ore 3.15 . . . . .           | 5.200  | ..   | ..  |
| Id. 4.15 . . . . .                | ..   | 5.800  | 2.800   |
| Id. 5.— . . . . .                 | ..   | 5.600  | 4.400   |
| Id. 6.— . . . . .                 | 3.000  | ..   | 7.000   |
| Id. 7.— . . . . .                 | ..   | ..   | 9.400   |
| Id. 22.30 . . . . .               | ..   | 31.000   | ..  |
| Id. 23.— . . . . .                | 15.800   | 59.200   | 22.400  |
| Id. 28.— . . . . .                | ..   | ..   | 26.800  |
| Id. 30.— . . . . .                | ..   | 26.000   | 18.000  |
| Id. 49.— . . . . .                | ..   | 20.600   | 11.200  |

TABELLA B.

Coniglio *b* - peso kgr. 1.350.*Si immunizza contro il bacillo del tifo.*

| Ore di distanza<br>dalla inoculazione | I<br>Giugno 24<br>Ora dell'inoculazione<br>11.50 | II<br>Luglio 5<br>Ora dell'inoculazione<br>12.05   | III<br>Luglio 11<br>Ora dell'inoculazione<br>11.40 | IV<br>Luglio 24<br>Ora dell'inoculazione<br>10 |
|---------------------------------------|--|--|--|--|
|                                       | Prima della inoculazione . . . . .               | 15.000   | 13.200   | 13.800   |
| Inoculazione. . . . .                 | ½ patina<br>uccisa<br>a 65-70 C°                 | oltre ½ patina<br>tifo esposta<br>per 1 h. a 60 C° | ½ patina<br>esposta per 1 h.<br>a 65 C°            | poco meno<br>di ½ patina<br>uccisa a 65-70 C°  |
| Dopo minuti 6-8 . . .                 | ..   | 2.000  | 4.800  | 2.400  |
| Id. 25 . . .                          | 4.800  | ..   | 4.400  | ..   |
| Id. 40 . . .                          | ..   | 9.200  | ..   | ..   |
| Dopo ore 1.— . . .                    | ..   | ..   | ..   | 4.100  |
| Id. 2.— . . .                         | ..   | ..   | ..   | 7.200  |
| Id. 3.15 . . .                        | 4.000  | ..   | ..   | ..   |
| Id. 4.— . . .                         | ..   | 6.400  | ..   | ..   |
| Id. 5.— . . .                         | ..   | ..   | 6.000  | ..   |
| Id. 6.— . . .                         | ..   | ..   | ..   | 15.400   |
| Id. 6.50 . . .                        | ..   | ..   | 80.000   | ..   |
| Id. 8.15 . . .                        | ..   | ..   | ..   | 26.000   |
| Id. 22.30 . . .                       | ..   | 9.700  | ..   | ..   |
| Id. 24.— . . .                        | 5.600  | ..   | 26.000   | 53.800   |
| Id. 26.— . . .                        | ..   | ..   | ..   | 30.200   |
| Id. 28.30 . . .                       | ..   | 13.600   | ..   | 15.000   |
| Id. 47-48 . . .                       | 14.000   | ..   | 38.000   | 48.000   |
| Id. 54-55 . . .                       | ..   | ..   | 28.000   | 14.000   |
| Id. 71-73 . . .                       | ..   | ..   | 21.600   | 23.800   |
| Id. 71-79 . . .                       | ..   | ..   | 17.600   | 17.600   |
| Id. 95-96 . . .                       | ..   | ..   | 15.600   | 28.200   |
| Id. 103-104 . . .                     | ..   | ..   | ..   | 16.000   |
| Id. 120 . . . . .                     | ..   | ..   | ..   | 14.005   |

## Coniglio c. - peso kgr. 1.380.

## Si immunizza verso il B. del tifo.

|                                   | I<br>Giugno 28<br>Ora dell'inoculazione<br>11.30                   | II<br>Luglio 8<br>Ora dell'inoculazione<br>11.40         | III<br>Luglio 17<br>Ora dell'inoculazione<br>11.35       | IV<br>Agosto 1<br>Ora dell'inoculazione<br>9.30          | V<br>Agosto 11<br>Ora dell'inoculazione<br>11 | VI<br>Agosto 27<br>Ora dell'inoculazione<br>10.45            |
|-----------------------------------|--|--|--|--|---|--|
| Ore di distanza dall'inoculazione |  |  |  |  |   |  |
| Prima dell'inoculazione           | 10.000   | 10.200   | 15.000   | 8.400  | 10.000  | 7.200  |
| Inoculazione                      | 1/2 patina di tifo<br>esposta per 1 <sup>h</sup><br>ad oltre 65 C° | 3/4 patina<br>esposta per 1 <sup>h</sup><br>tra 60-65 C° | 1/2 patina<br>esposta per 1 <sup>h</sup><br>tra 60-65 C° | 1/2 patina<br>esposta per 1 <sup>h</sup><br>tra 60-65 C° | 3/4 patina<br>uccisa a<br>65 C°               | oltre 1/2 patina<br>esposta per 1 <sup>h</sup><br>a 65-70 C° |
| Dopo minuti                       | 5  | 3.000  | 12.290   | ..   | ..  | 6.400  |
| Id.                               | 10   | ..   | ..   | ..   | ..  | ..   |
| Id.                               | 27-35  | 1.800  | 13.200   | 4.000  | ..  | 8.000  |
| Dopo ore                          | 4.30   | 2.000  | 5.400  | ..   | ..  | ..   |
| Id.                               | 5.50   | ..   | ..   | ..   | ..  | ..   |
| Id.                               | 6.20   | 32.000   | 14.000   | 16.400   | ..  | 7.600  |
| Id.                               | 6.50   | 39.200   | ..   | ..   | ..  | 19.200   |
| Id.                               | 8.30   | ..   | ..   | 23.000   | ..  | 43.600   |
| Id.                               | 10   | ..   | ..   | ..   | ..  | ..   |
| Id.                               | 23-74  | 12.000   | 51.000   | 70.800   | ..  | ..   |
| Id.                               | 26   | ..   | ..   | 27.205   | ..  | ..   |
| Id.                               | 28-29  | 13.000   | 57.800   | ..   | ..  | 45.600   |
| Id.                               | 30-31  | ..   | ..   | 22.200   | ..  | 55.000   |
| Id.                               | 40-49  | 18.600   | 25.400   | 09.200   | ..  | ..   |
| Id.                               | 50   | ..   | 11.400   | 87.000   | ..  | ..   |
| Id.                               | 53-55  | ..   | 26.800   | 20.400   | ..  | 36.000   |
| Id.                               | 70-72  | ..   | 20.600   | 44.800   | ..  | 15.600   |
| Id.                               | 78-30  | ..   | ..   | 18.600   | ..  | 16.000   |
| Id.                               | 95-30  | ..   | ..   | 12.000   | ..  | 14.400   |
| Id.                               | 103  | ..   | ..   | 9.000  | ..  | 27.000   |
| Id.                               | 120  | ..   | ..   | 8.800  | ..  | 9.000  |
| Id.                               | 127  | ..   | ..   | 8.000  | ..  | 17.000   |
| Id.                               | 144  | ..   | ..   | 7.800  | ..  | ..   |

TABELLA D.

Inoculazione del bacillo del tifo.

| Ore di distanza<br>dalla inoculazione | Coniglio b<br>immunizzato già<br>con IV inoculazione       |                       | Coniglio nuovo  |
|---------------------------------------|--|-----------------------|---|
|                                       | Luglio 24  |                       |   |
|                                       | Ora dell'inoculazione                                      | Ora dell'inoculazione |   |
| Prima dell'inoculazione . . . . .     | 12.800 *   |                       | 8.600   |
| Inoculazione . . . . .                | poco meno<br>di 1/2 patina<br>di tifo uccisa<br>a 65-70 C° |                       | poco più<br>di 1/2 patina<br>di tifo uccisa<br>a 65-70 C° |
| Dopo minuti 5 . . . . .               | 2.400  |                       | 3.000   |
| Dopo ore 1.— . . . . .                | 4.000  |                       | 3.000   |
| Id. 2.— . . . . .                     | 7.206  |                       | 4.200   |
| Id. 6.— . . . . .                     | 15.400   |                       | 5.200   |
| Id. 8.15 . . . . .                    | 26.400   |                       | ..  |
| Id. 8.45 . . . . .                    | ..   |                       | 7.800   |
| Id. 24.— . . . . .                    | 52.800   |                       | 50.900  |
| Id. 26.— . . . . .                    | 30.200   |                       | 33.000  |
| Id. 30.— . . . . .                    | 15.000   |                       | 16.000  |
| Id. 48.— . . . . .                    | 48.000   |                       | 38.800  |
| Id. 55.— . . . . .                    | 14.000   |                       | 15.000  |
| Id. 73.— . . . . .                    | 23.800   |                       | 75.600  |
| Id. 79.— . . . . .                    | 17.600   |                       | 10.400  |
| Id. 96.— . . . . .                    | 25.200   |                       | 14.400  |
| Id. 103.— . . . . .                   | 16.000   |                       | 12.200  |
| Id. 120.— . . . . .                   | 14.000   |                       | 15.000  |

TABELLA E.

Inoculazione del bacillo del tifo.

| Ora di distanza<br>dalla inoculazione | Coniglio c<br>immunizzato già<br>con IV inoculazione            |                       | Coniglio nuovo                                 |
|---------------------------------------|---|-----------------------|--|
|                                       | Agosto 1  |                       |  |
|                                       | Ora dell'inoculazione   | Ora dell'inoculazione |  |
| Prima dell'inoculazione . . . . .     | 8.400   |                       | 8.800  |
| Inoculazione . . . . .                | a ciascuna 1/2<br>patina di tifo<br>esposta per 1 h. a 60-64 C° |                       | 3.400  |
| Dopo minuti 30. . . . .               | 4.000   |                       | ..   |
| Id. 50. . . . .                       | ..  |                       | 3.400  |
| Id. 6.30 . . . . .                    | 16.400  |                       | ..   |
| Id. 7.— . . . . .                     | ..  |                       | 5.400  |
| Id. 8.30 . . . . .                    | 23.000  |                       | ..   |
| Id. 9.20 . . . . .                    | ..  |                       | 14.000   |
| Id. 24.— . . . . .                    | 70.800  |                       | 49.200   |
| Id. 26.— . . . . .                    | 27.200  |                       | 16.400   |
| Id. 31.— . . . . .                    | 22.200  |                       | 10.000   |
| Id. 48.— . . . . .                    | 99.200  |                       | 16.400   |
| Id. 50.— . . . . .                    | 87.000  |                       | 18.000   |
| Id. 55.— . . . . .                    | 20.400  |                       | 26.800   |
| Id. 72.— . . . . .                    | 44.800  |                       | 20.800   |
| Id. 78.— . . . . .                    | 18.600  |                       | 10.400   |
| Id. 96.— . . . . .                    | 12.000  |                       | 32.800   |
| Id. 103.— . . . . .                   | 9.000   |                       | 11.000   |
|                                       |   |                       | coniglio malato<br>emette mucro<br>con le feci |
| Id. 120.— . . . . .                   | 8.800   |                       | 9.200  |
| Id. 127.— . . . . .                   | 8.800   |                       | il conigliommore                               |
| Id. 144.— . . . . .                   | 7.800   |                       | ..   |

TABELLA F

## Inoculazione di stafilococco piogeno aureo.

| Ora di distanza dall'inoculazione | Coniglio <i>f</i><br>immunizzato<br>(III inoculazione)<br>verso lo staf. p. a.   | Coniglio <i>b</i><br>immunizzato<br>verso il tifo<br>(IV inoculazione) | Coniglio nuovo                 |
|-----------------------------------|--|--|--------------------------------|
|                                   | Luglio 8   |  |                                |
|                                   | Ora dell'inoculazione<br>10.5  | Ora dell'inoculazione<br>11.10   | Ora dell'inoculazione<br>12.15 |
| Prima dell'inoculazione . . . . . | 10.000   | 9.400  | 12.200                         |
| Inoculazione . . . . .            | a ciascuno $\frac{1}{3}$ di emulsione<br>fatta con due patine di stafilococco p. a.<br>esposto per 1 h. a 60-65 C <sup>0</sup> |  |                                |
| Dopo minuti 20-25 . . . . .       | 24.600   | 24.000   | 14.000                         |
| Dopo ore 1.25-1.40 . . . . .      | 13.200   | 11.200   | 4.800                          |
| Id. 4.50 . . . . .                | 27.000   | 8.600  | 8.400                          |
| Id. 7.— 7.15 . . . . .            | 29.000   | 28.000   | 10.600                         |
| Id. 8.20-8.35 . . . . .           | 16.200   | 15.800   | 11.400                         |
| Id. 23.30 . . . . .               | 20.400   | 14.000   | 12.200                         |

TABELLA G.

## Inoculazione di vibrione del colera asiatico.

| Ora di distanza<br>dalla inoculazione | Coniglio<br>immunizzato<br>(II inoculazione)<br>verso il colera                           | Coniglio<br>immunizzato<br>(II inoculazione)<br>verso il tifo |
|---------------------------------------|---|---|
|                                       | Agosto 21   |   |
|                                       | Ora dell'inoculazione   |   |
|                                       | 9.40  | 9.45  |
| Prima dell'inoculazione . . . . .     | 9.800   | 10.600  |
| Inoculazione . . . . .                | a ciascuno 1/4 di un emulsione di due patine di vibrione del colera as. ucciso a 65-70 C° |   |
| Dopo minuti 10-15 . . . . .           | 9.000   | 4.400   |
| Dopo ore 1.55-2. . . . .              | 7.400   | 5.800   |
| Id. 5.55 . . . . .                    | ..  | 40.000  |
| Id. 6.20 . . . . .                    | 26.000  | ..  |
| Id. 6.35 . . . . .                    | ..  | 24.000  |
| Id. 6.50 . . . . .                    | 37.600  | ..  |
| Id. 26.— . . . . .                    | 60.000  | 58.800  |
| Id. 50.— . . . . .                    | 18.600  | 13.400  |
| Id. 72.— . . . . .                    | 12.800  | 6.600   |

TABELLA H.

## Inoculazione di bacillo del tifo.

| Ora di distanza<br>dalla inoculazione | Coniglio e<br>immunizzato<br>(V inoculazione)<br>verso il tifo         | Coniglio<br>immunizzato<br>(II inoculazione)<br>verso il colera |
|---------------------------------------|--|---|
|                                       | Agosto 27  |   |
|                                       | Ora dell'inoculazione  |   |
|                                       | 10.35  | 10.50   |
| Prima dell'inoculazione . . . . .     | 7.200  | 10.600  |
| Inoculazione . . . . .                | a ciascuno 1/3 di emulsione di patina di b. del tifo uccisa a 65-70 C° |   |
| Dopo minuti 5 . . . . .               | 6.400  | ..  |
| Id. 10 . . . . .                      | ..   | 6.000   |
| Id. 35 . . . . .                      | 8.000  | 3.600   |
| Dopo ore 5.30 . . . . .               | ..   | 9.000   |
| Id. 5.55 . . . . .                    | 4.200  | ..  |
| Id. 6.15 . . . . .                    | ..   | 10.400  |
| Id. 6.55 . . . . .                    | 7.600  | ..  |
| Id. 7.40 . . . . .                    | ..   | 9.000   |
| Id. 8.— . . . . .                     | 11.200   | ..  |
| Id. 8.25 . . . . .                    | ..   | 19.000  |
| Id. 8.45 . . . . .                    | 19.200   | ..  |
| Id. 9.— . . . . .                     | ..   | 16.000  |
| Id. 9.20 . . . . .                    | 12.400   | ..  |
| Id. 9.40 . . . . .                    | ..   | 18.800  |
| Id. 10.— . . . . .                    | 43.600   | il conigliomutore<br>nella notte<br>(cocciotiosi)               |

