



*Maggi v. a*

Prof. AGENORE ZERI

*M. S. 27. 91*

# SULLA VARIA EFFICACIA DEI SIERI TERAPEUTICI

a seconda del punto di penetrazione dei corrispondenti germi infettivi

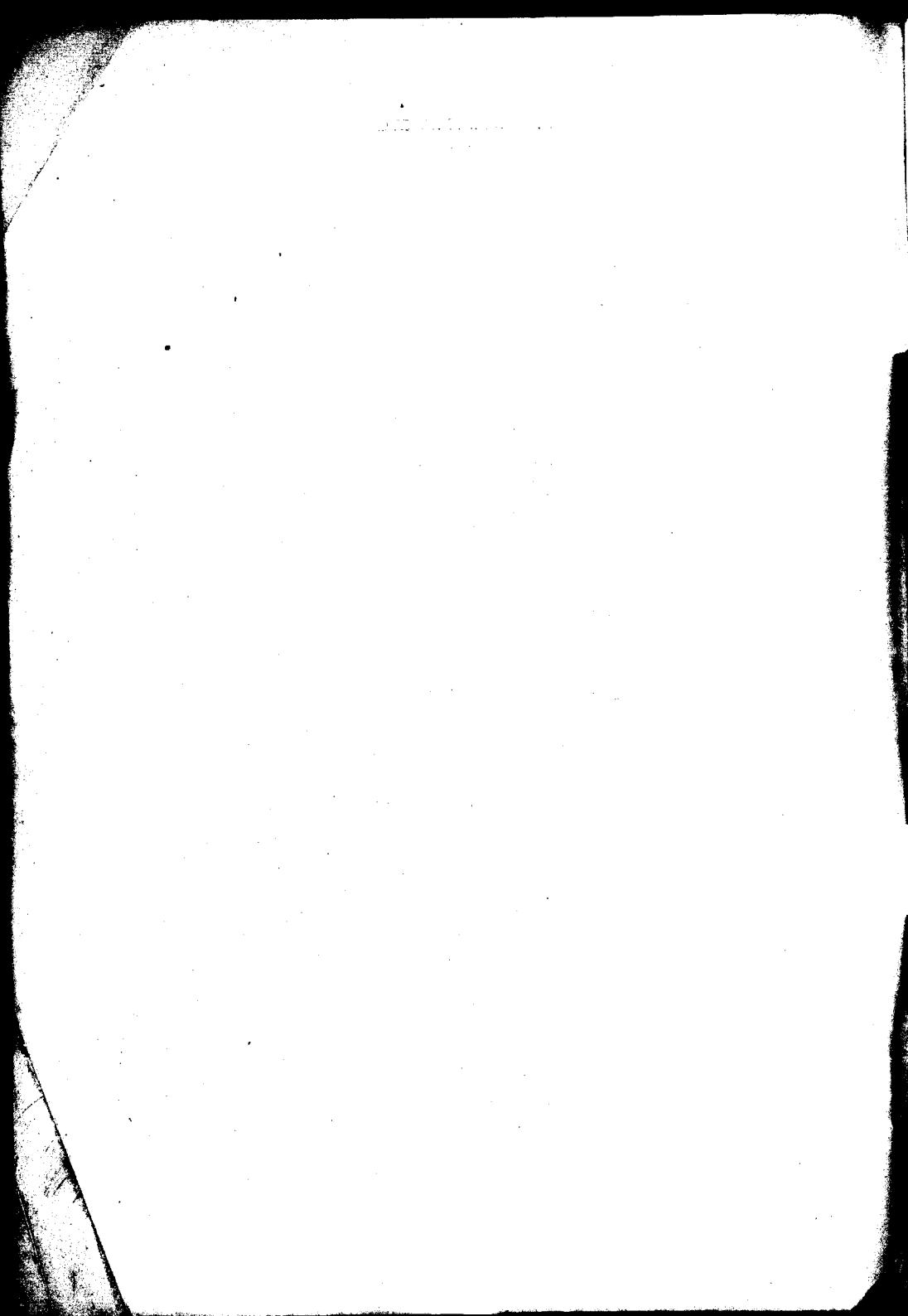
*Estratto dal POLICLINICO, Vol. X-M., 1903*



ROMA

N. 6 - Via del Caravita - N. 6

1903



PROF. AGENORE ZERI

# SULLA VARIA EFFICACIA DEI SIERI TERAPEUTICI

a seconda del punto di penetrazione dei corrispondenti germi infettivi

*Estratto dal Policlinico, Vol. X-M., 1903*



ROMA

N. 6 - Via del Caravita - N. 6

1903



---

ISTITUTO D'IGIENE SPERIMENTALE DELLA R. UNIVERSITÀ DI SIENA  
diretto dal prof. A. SCLAVO

---

***Sulla varia efficacia dei sieri terapeutici a seconda del punto di penetrazione dei corrispondenti germi infettivi.***

Ricerche sperimentali del prof. dott. AGENORE ZERI.

Il campo più glorioso e più fecondo di felici conquiste, in cui nell'ultimo quarto di secolo si sono esercitati i cultori delle scienze mediche, è, senza dubbio, quello che si riferisce al complesso problema dell'immunità. Allorché dopo il vigoroso impulso dato dal genio di Pasteur e dai suoi collaboratori si giunse man mano, traverso mille difficoltà, a conferire negli animali da esperimento un'immunità attiva, valendosi di svariati accorgimenti, parve che la medicina pratica s'avviasse per una via piena di fortunati e brillanti risultati. E sempre più l'animo s'apri alla speranza dopo le ricerche di Behring e Kitasato, che completando e sviluppando i primi tentativi di Reynaud, Richet, Hericourt, Babes e Lippe dimostrarono luminosamente che il siero di animali, vaccinati contro una data infezione, acquista proprietà immunizzanti che possono essere trasmesse ad animali nuovi, anche eterogenei, quando questo venga ad essi iniettato.

Si iniziava così la via promettente della sieroterapia e le ricerche di laboratorio pareva dovessero fornire al clinico un'arma potente nel debellare le più temute infezioni e dal campo della più pura speculazione e dell'esperimento di laboratorio si passava al letto del malato con liete e fondate speranze. Ed i primi risultati, rispetto all'infezione difterica, furono corri-

spondenti all'aspettativa. Una prima vittoria, sebbene da principio ostacolata da dubbi e da incertezze. si era vinta; tutto era da sperare per la cura di altre infezioni, valendosi cioè del medesimo principio della virtù curativa dei sieri di animali immunizzati. Per molte malattie infettive si prepararono infatti sieri terapeutici, che però al cimento della pratica non sempre resisterono ed apparvero nell'uomo infermo spesso destituiti di quelle virtù medicatrici che negli animali da esperimento risultavano in modo solenne.

Due sieri in particolar modo furono accolti con vivo interesse dei medici curanti: il siero antipneumonicò Pauc, che sebbene pareva dovesse morire soffocato dagli attacchi di molta parte della stampa medica, ha fatto tuttavia in alcune cliniche le buone prove, avutesi nei laboratori; ed il siero anticarbonchioso Scervo, il quale, mercè un lavoro indefesso dell'autore, pare s'imponga tanto nella medicina umana, quanto in quella veterinaria.

Scopo del mio studio fu quello di esporre questi due sieri ad un nuovo cimento negli animali per vedere se, variando una o più condizioni della ricerca solita a farsi per la dimostrazione dell'efficacia curativa di detti sieri, si mantenesse con eguale intensità e con persistente costanza il potere curativo di essi. E più precisamente voleva rilevare se rimanesse immutato o se variasse, e in qual modo, l'azione di un siero, immunizzante l'organismo passivamente, qualora nella prova sperimentale fosse inocolato il virus non più per una delle vie di penetrazione più comunemente in uso nelle ricerche batteriologiche, quale è la cute, ma tentando invece l'ingresso dei germi nella camera all'anteriore dell'occhio.

Ad una ricerca di tal genere mi inducevano specialmente le recenti investigazioni di Manfredi e Viola, (1) per le quali fu affermato che effettuandosi l'inoculazione di un virus (carbonchioso, tifico, ecc.) nella camera anteriore dell'occhio in conigli e cavie, dagli autori riguardata come una grande lacuna linfatica, si hanno dosi le quali sono incapaci di produrre l'infezione di tutti gli animali, mentre che inoculate sotto cute uccidono senza fallo detti animali. Per tal fatto e per altre osservazioni, Manfredi conchiude che le vie linfatiche sono dotate di fronte al virus di un potere di resistenza molto superiore a quello di tutte le altre parti dell'organismo e quindi debbono concorrere alla protezione e difesa di questo in grado notevolmente alto.

In base a questi importanti risultati era fondata la speranza di poter elevare subito e di molto la dose mortale minima di virus per la camera

---

(1) L. MANFREDI e P. VIOLA. *Influenza dei gangli linfatici nella produzione della immunità verso le malattie infettive*. Annali d'igiene sperimentale. Vol. VII (nuova Serie), pag. 456.

anteriore, valendosi contemporaneamente di piccolissime dosi di un siero immunizzante specifico.

E non era improbabile con tale inoculazione di virus nell'occhio e di siero nelle vene, che congiungendosi il prodotto della immunizzazione attiva con quello della passiva, si ottenesse nell'animale da esperimento una immunizzazione più intensa e più duratura.

La tecnica di cui mi sono valso presso a poco è identica a quella che si usa nei laboratori per le inoculazioni nella camera anteriore. Legato l'animale (nel mio studio ho adoperato unicamente conigli) sul tavolo di operazione, se ne fissa la testa saldamente con l'apparecchio di Verdin in modo però che essa sia disposta obliquamente e quindi con l'occhio rivolto in alto. Si pratica una generosa e ripetuta lavanda del sacco congiuntivale con acqua bollita, poi poggiando sul bordo dell'orbita il manico di un bisturi si lussa il bulbo oculare che rimane allora in una posizione stabile, senza che possa essere spostato dall'animale.

Sicuro dell'immobilizzazione del globo si punge la cornea piuttosto alla periferia con un ago-cannula sottilissimo, previamente sterilizzato e tenuto nell'infiggere la cornea in modo da evitare la puntura ed ogni altro maltrattamento dell'iride.

Prontamente fuoriesce a gocce l'umore acqueo ed atteso qualche istante, adattata con molta cautela la siringa all'ago, s'inietta il liquido contenente i germi.

Nel movimento dell'estrazione dell'ago, per quanto questa si faccia lentamente, e con ogni cautela e con somma delicatezza, non si riesce ad evitare un rigurgito del liquido di coltura, inoculato nella camera anteriore, liquido che va a diffondersi sulla superficie corneale e nei fornici congiuntivali, ciò che richiede di nuovo un abbondante e ripetuto lavaggio con acqua sterilizzata. Il materiale di innesto era costituito da emulsioni in brodo di patina di culture su agar di bacillo del carbonchio e di pneumococco. Tali emulsioni venivano sempre finamente divise facendole passare più volte attraverso ad un sottile ago-cannula di una siringa.

#### I. — *Inoculazioni di virus carbonchioso nella camera anteriore dell'occhio e sotto la cute.*

Come base fondamentale delle mie ricerche era naturale che si dovesse innanzi tutto tentare di stabilire nei conigli, su cui esperimentava, la dose mortale minima di materiale carbonchioso per la camera anteriore dell'occhio, ma ben presto nelle prove preliminari d'orientamento dovetti convincermi che i dati da me trovati non avrebbero avuto valore alcuno.

In primo luogo a togliere ogni peso al risultato di questa ricerca stava il fatto dell'inevitabile rigurgito del liquido inoculato quando si estraе l'ago. rigurgito che rende impossibile l'esatta determinazione della quantità di liquido culturale iniettato. Riflettendo poi alla enorme differenza individuale dei conigli di fronte all'infezione carbonchiosa, e considerando che la virulenza del germe oscilla grandemente da coltura a coltura ritenni difficile e impossibile a potersi determinare la dose mortale minima per le inoculazioni nella camera anteriore dell'occhio.

Almeno tale determinazione della dose mortale minima si sarebbe dovuta fare volta per volta per ciascun gruppo d'esperimenti, ciò che rendeva questi non più possibili, coll'andar del tempo potendosi attenuare il virus, lavorando con germi a virulenza così mutevole quali quelli del carbonchio e i diplococchi.

La mancanza di tale dato di fatto mi faceva però rinunciare ad una parte del mio programma di ricerche. Non si poteva più tentare di salvare un coniglio iniettato per l'occhio con dose di virus poco superiore a quella minima letale, valendosi in pari tempo di dosi di siero piccole, quali non avrebbero salvato un coniglio infettato, a tutte altre condizioni pari, per la via della pelle.

Rimaneva tuttavia sempre lo studio dell'efficacia di un siero immunizzante, qualora, nell'infezione sperimentale, il punto d'ingresso dei germi fosse dato dalla camera anteriore dell'occhio.

Nella serie di esperienze, intraprese come preludio delle ricerche proposte, volli dapprima stabilire per mio conto un confronto fra il destino di conigli inoculati di carbonchio sotto la cute e quello di altri innestati per la camera anteriore.

A dire il vero tale confronto lo estesi in seguito su largo numero di animali, allorché nei primi tentativi d'impraticamento ad eseguire inoculazioni nella camera anteriore dell'occhio m'avvidi che anche usando dosi piccole di virus i risultati eran ben differenti da quelli che prevedeva.

Riporto nelle seguenti tabelle i risultati ottenuti coll'inoculazione comparativa nell'occhio e sotto cute di materiale infettante in quantità gradatamente sempre più piccola. Nel 1° gruppo d'esperienze (tabella I) di questa serie mi valse di una cultura di carbonchio su agar, di 24 ore, discretamente sviluppata e già sporificata. La patina di questa cultura veniva diluita con cmc. 10 di brodo e se ne preparava una fine emulsione.

Nel 2° gruppo (tabella II) mi serviva di una patina di cultura della medesima età e presso a poco del medesimo sviluppo, sospesa in cmc. 20; nel 3° gruppo (tabelle III e IV) di una patina nelle condizioni precedenti sospesa in cmc. 30.

TABELLA I.

Numero d'ordine	Peso del coniglio — grammi	Quantità di materiale inoculato	Luogo dell'innesto	Esito	Osservazioni
1	1350	$\frac{1}{10}$ cmc. emulsione suddetta	Camera anteriore occhio	Morte dopo 24 ore	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica o batteriologica.
2	1200	"	"	" 30 "	"
3	1150	"	"	" 16 "	"
4	1000	"	"	" 18 "	"
5	1500	"	"	" 24 "	"
6	1300	"	"	" 20 "	"
7	950	"	"	" 22 "	"
8	1450	"	Camera anteriore occhio	" 30 "	"
9	1350	"	"	" 38 "	"
10	1000	"	"	" 44 "	"
11	950	"	"	" 40 "	"
12	1100	"	"	" 26 "	"
13	1200	"	"	" 20 "	"
14	1150	"	"	" 28 "	"

TABELLA II.

Numero d'ordine	Peso del coniglio — grammi	Quantità di materiale inoculato	Luogo dell'innesto	Esito	Osservazioni
15	1150	$\frac{1}{10}$ cmc. emulsione suddetta	Camera anteriore occhio	Morte dopo 18 ore	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
16	1100	»	»	» 17 »	»
17	1000	»	»	» 22 »	»
18	1300	»	»	» 26 »	»
19	1150	»	»	» 18 »	»
20	1100	»	»	» 24 »	»
21	1400	»	»	» 24 »	»
22	1400	»	Sotto cute	» 18 »	»
23	1200	»	»	» 20 »	»
24	1100	»	»	» 32 »	»
25	1000	»	»	» 36 »	»
26	1000	»	»	» 22 »	»
27	1250	»	»	» 38 »	»
28	1350	»	»	» 45 »	»

TABELLA III.

Numero d'ordine	Peso del coniglio — grammi	Quantità di materiale inoculato	Luogo dell'innesto	Esito	Osservazioni
29	1350	$\frac{1}{10}$ cmc. emulsione suddetta	Camera anteriore occhio	Morte dopo 28 ore	Sotticemia carbonchiosa; diagnosi anatomica e batteriologica.
30	1200	»	»	» 24 »	»
31	1400	»	»	» 28 »	»
32	1100	»	»	» 36 »	»
33	1200	»	»	» 40 »	»
34	1250	»	»	» 23 »	»
35	1050	»	»	» 32 »	»
36	1350	»	Sotto cute	» 22 »	»
37	1050	»	»	» 38 »	»
38	1000	»	»	» 48 »	»
39	1250	»	»	» 40 »	»
40	1100	»	»	» 22 »	»
41	1200	»	»	» 28 »	»
42	1400	»	»	» 48 »	»

TABELLA IV.

Numero d'ordine	Peso del coniglio — grammi	Quantità di materiale inoculato	Luogo dell'inoculazione	Esito	Osservazioni
43	1300	$\frac{1}{20}$ cmc. emulsione suddetta	Camera anteriore occhio	Morto dopo 30 ore	Setticemia carbonchiosa; diagnosi anatomica e batteriologica.
44	1300	»	»	» 28 »	»
45	1350	»	»	» 36 »	»
46	1100	»	»	» 48 »	»
47	1200	»	»	» 48 »	»
48	1000	»	»	» 30 »	»
49	1150	»	»	» 36 »	»
50	1000	»	Sotto cute	» 40 »	»
51	1300	»	»	» 60 »	»
52	1450	»	»	» 58 »	»
53	1100	»	»	» 36 »	»
54	1250	»	»	» 40 »	»
55	1050	»	»	» 72 »	»
56	1200	»	»	» 68 »	»

I risultati delle esperienze surriferite sono evidenti e dimostrano chiaramente come il virus carbonchioso, in data quantità, introdotto nell'organismo del coniglio per la camera anteriore dell'occhio produce la morte dell'animale più rapidamente che non quando sia innestato sotto la cute.

Reputo superfluo riferire qui e nelle esperienze seguenti i protocolli delle osservazioni praticate sugli animali in vita dopo l'inoculazione e quelli dei reperti delle autopsie. Nè riporto i risultati delle indagini batterioscopiche e culturali eseguite sul sangue del cuore del coniglio e di quelle eseguite sul contenuto dell'occhio inoculato, dopo la morte dell'animale, ricerche praticate allo scopo di stabilire esattamente la diagnosi batteriologica.

Interessante era il reperto che si aveva nell'occhio dopo l'innesto nella camera anteriore. La congiuntiva palpebrale e bulbare rimaneva inalterata, anzi in due casi in cui già prima dell'innesto si aveva iperemia congiuntivale questa non si accentuò nei primi giorni dopo l'inoculazione. Sulla cornea nel sito d'infissione dell'ago appariva un piccolo punto biancastro senza tendenza ad estendersi e solo raramente si aveva opacamento della cornea in leggero grado. Specialmente nei conigli che vissero più a lungo dopo la infezione si notava formazione di un essudato biancastro nella camera anteriore e precisamente in corrispondenza del foro pupillare, essudato che non tardava talora ad acquistare carattere purulento, producendo in tal modo cherato-ipopion.

\* \*

Con i risultati ottenuti, contrari alle mie primitive previsioni, sempre più appariva la poca solidità della base di una parte delle ricerche, che mi era dapprima proposto di eseguire.

Come riuscire ad ottenere una più forte immunizzazione del coniglio, inocolandolo con siero nelle vene e virus carbonchioso nell'occhio quando l'ingresso dei germi per questa via, in dose modesta, non rendeva l'infezione meno grave?

Coll'appoggio infatti delle ricerche surriferite si può senza altro affermare che il virus carbonchioso introdotto nella camera anteriore dell'occhio riesce più virulento pel coniglio che non quando si ricorre all'inoculazione sottocutanea.

Nè tale conclusione può essere facilmente scossa dalla critica quando si consideri:

a) la costanza del risultato in un numero non piccolo di conigli sacrificati;

b) che gli animali ritenuti utilizzabili per i risultati rappresentano solo una parte tra gli inoculati, fra i quali si scartavano immediatamente quelli su cui poteva cader dubbio che l'inoculazione fosse riuscita a perfe-

zione o si temeva che per qualche brusca scossa dell'animale o per spostamento dell'occhio fosse stato ferito con la punta dell'ago l'iride o i tessuti circostanti.

Per salvaguardarsi da tale causa d'errore non si trascurava mai di osservare accuratamente con una lente d'ingrandimento, dopo l'innesto, lo stato dell'occhio del coniglio operato.

E non solo dai risultati ottenuti potevo trarre la conclusione suddetta, ma considerando l'immane rigurgito di liquido che avviene dalla camera anteriore quando si ritira l'ago, rigurgito che deve rendere minore il numero dei germi introdotti e tenendo conto della morte degli inoculati sotto cute, con fondamento si poteva dubitare che la camera anteriore dell'occhio, qualora accolga germi infettivi, non fornisca a questi un certo grado di attenuazione, nè che li avvii per organi ove si possano imbattere in processi distruttivi.

Se i miei risultati non collimavano con quelli di Manfredi si accordavano invece con ciò che Metchnikoff aveva osservato nei piccioni.

Egli vide (1) « *che se questi animali sopportano di regola l'inoculazione del virus carbonchioso ordinario introdotto sotto la pelle o nei muscoli, essi soccombono invece nel maggior numero dei casi in seguito all'introduzione dello stesso virus nella camera anteriore dell'occhio* ».

La gravità dell'infezione endoculare per il piccione risulta ancora della seguente affermazione di Metchnikoff: *Generalmente quando i piccioni hanno sopportato una prima inoculazione si mostrano assai più refrattari alle inoculazioni successive. Posso però riferire un'eccezione alla regola, quella di un piccione guarito dopo l'introduzione del virus carbonchioso sotto la pelle e che morì dopo una seconda inoculazione di un virus ordinario nella camera anteriore dell'occhio* ».

Un altro fatto è meritevole di essere qui ricordato, ed è che secondo Metchnikoff l'umor acqueo del piccione, pur notevolmente refrattario al carbonchio, costituisce un buon substrato nutrizio per il germe di questa infezione, mentre Nuttall (2) dimostrò che nei conigli, ancor più sensibili del piccione al carbonchio, l'umor acqueo ha potere di uccidere in breve tempo un certo numero di germi carbonchiosi.

Forse la differenza nei risultati ottenuti da me e Manfredi poteva dipendere dal ciò che io avessi fatto uso di una quantità troppo grande di cultura, superiore di molto alle risorse del potere battericida dell'umor acqueo dei conigli ed è perciò che mi proposi di proseguire gli esperimenti variandone al-

(1) METCHNIKOFF. *Études sur l'immunité* (2<sup>e</sup> mémoire). Annales de l'Institut Pasteur, 1890, pag. 65.

(2) NUTTALL. *Experimente über die bacterienfeindlichen Einflüsse des thierischen Körpers*. Zeitschrift für Hygiene, vol. IV, pag. 353.

cune condizioni. Così, allo scopo di iniettare nella camera anteriore dell'occhio una dose minima di materiale infettante, ideai di valermi di un coltellino di Gräfe con cui trapassavo la cornea dopo averlo bagnato nella consueta emulsione in brodo di patina di coltura su agar di carbonchio.

Era probabile l'aspettarsi all'atto pratico che inoltrando il coltellino, su cui erano aderenti i germi, nella camera anteriore la pronta fuoriuscita dell'umore acqueo avrebbe trasportato via gran parte dei microrganismi e la quantità di quelli rimasti sarebbe stata limitatissima.

Prima di riferire i risultati ottenuti in due distinti gruppi di esperienze, per la loro completa comprensione debbo dire che nel primo gruppo (Tav. V) per le inoculazioni nell'occhio dei conigli bagnava il coltellino di Gräfe in una emulsione fatta con una patina di coltura di carbonchio di 24 ore, sporificata, della solita provenienza e mediocrementemente sviluppata, in 20 cmc. di brodo: per le inoculazioni sottocutanee nei conigli di confronto mi valeva della stessa emulsione, introdotta con una comune siringa.

Pel secondo gruppo (Tav. VI) l'emulsione usata era più ricca di germi, disciogliendo la patina della coltura di carbonchio su agar con soli 5 cmc. di brodo e tanto nelle inoculazioni nella camera anteriore, quanto in quelle sottocutanee mi serviva del coltellino di Gräfe.

TABELLA V.

Numero d'ordine	Peso del coniglio — grammi	Quantità di materiale inoculato della patina sospesa in 120 cmc di brodo	Luogo d'innesto	Esito	Osservazioni
57	1000	Germi aderenti coltellino Gräfe	Camera anteriore occhio.	Vivo	—
58	1200	»	»	Morto dopo 72 ore	Diagnosi anatomica e batteriologica: setticemia carbonchiosa.
59	950	»	»	» 50 »	»
60	1300	»	»	» 58 »	»
61	1250	»	»	Vivo	—
62	1100	»	»	Vivo	—
63	900	»	»	Morto dopo 74 ore	Diagnosi anatomica e batteriologica: setticemia carbonchiosa.
64	1050	»	»	» 60 »	»
65	900	$\frac{1}{10}$ cmc. emulsione	Inoculazione sotto cute.	» 48 »	»
66	1200	»	»	» 20 »	»
67	1000	»	»	» 24 »	»
68	1000	»	»	» 36 »	»
69	1300	»	»	» 45 »]	»
70	1450	»	»	» 44 »	»

TABELLA VI.

Numero d'ordine	Peso del coniglio -- grammi	Quantità di materiale inoculato della patina di cultura sospesa in 5 cme. di brodo	Luogo d'innesto	Esito	Osservazioni
71	900	Germi aderenti coltello Gräfe	Camera anteriore occhio.	Morto dopo 40 ore	Setticemia carbonchiosa; diagnosi anatomica e batteriologica.
72	1200	"	"	Vivo	Paralisi treno posteriore al 31° giorno di osservazione.
73	1150	"	"	"	—
74	1000	"	"	Morto dopo 74 ore	Setticemia carbonchiosa; diagnosi anatomica e batteriologica.
75	1300	"	"	" 50 "	"
76	1250	"	"	Vivo	—
77	1100	"	"	Morto dopo 72 ore	Sett. carb.: diagnosi anat. e batt.
78	950	"	Sotto cute	Vivo	
79	1050	"	"	Morto dopo 38 ore	Sett. carb.: diagnosi anat. e batt.
80	1300	"	"	" 48 "	"
81	1250	"	"	" 80 "	"
82	1000	"	"	Vivo	—
83	1450	"	"	"	—
84	1000	"	"	Morto dopo 82 ore	Sett. carb.: diagnosi anat. e batt.

Nel confronto tra inoculati nella camera anteriore dell'occhio mediante il coltellino di Gräfe ed inoculati per la via sottocutanea mediante il metodo consueto con un ago di siringa di Pravaz, data la grande differenza di quantità di germi innestati con l'uno e con l'altro metodo, può dirsi che nell'inoculazione della camera anteriore dell'occhio basta l'introduzione di pochissimi germi per produrre la morte dell'animale.

Comparando da ultimo il destino dei conigli inoculati nella camera anteriore e quelli sottocute, usando per ambedue gli innesti il coltellino di Gräfe, può affermarsi che ambedue le vie si equivalgono per gli effetti, rimanendo però sempre minore la quantità di germi che può essere inoltrata per la via dell'occhio.

..

Trovatomi per tal modo di fronte a fatti che mi dimostravano sempre più per il coniglio la gravità dell'introduzione dei germi del carbonchio nell'occhio, cercai di metter questa maggiormente in evidenza con altre prove. Tentai a tale scopo le inoculazioni comparative fra la via dell'occhio e quella della cute in animali già parzialmente immunizzati che esistevano nel laboratorio.

Trassi partito di alcuni conigli messi a mia disposizione dal professor Sclavo e che avevano servito per la determinazione del valore del siero anticarbonchioso. Settimane prima avevano ricevuto nelle vene 5 cmc. di siero specifico e 1/2 cmc. di cultura di carbonchio in brodo virulentissima. Trascorsi 26 giorni questi conigli erano poi stati inoculati con il doppio della dose primitiva di cultura di carbonchio ed avevano resistito a questa seconda inoculazione.

A dire il vero i conigli non si presentavano tutti in condizioni rigorosamente uguali. Infatti, sebbene essi fossero stati immunizzati nel medesimo periodo di tempo e col medesimo siero e coll'identico virus fosse stata provata l'immunizzazione, non si poteva tuttavia decidere qual grado di resistenza al virus carbonchioso avesse acquistato ciascuno, grado di resistenza che poteva essere variabile da coniglio a coniglio o essere perduto in un tempo più o meno breve. Condizione questa, non fissa e costante per tutti, da tenere in conto nel confronto del destino fra inoculati nell'occhio e inoculati sottocute.

Ecco i risultati ottenuti nell'esperimento riassunto nelle due seguenti tavole VII e VIII.

L'emulsione di germi carbonchiosi era preparata nelle medesime condizioni delle precedenti, solo variava, nei 2 gruppi di esperimento eseguiti, la diluizione nel brodo della patina della coltura.

TABELLA VII.

Num. d'ordine	Peso del coniglio gm.	Data della immunizzazione	Data della ultima inoculazione di virus	Quantità di materiale inoculato (patina in 20 cmc. di brodo)	Punto della inoculazione	Esito
85	1400	1 - 6 - 1902	10 - 8 - 1902	$\frac{1}{20}$ cmc.	Camera anteriore occhio	Vivo
86	1100	"	"	"	"	"
87	1000	"	"	"	"	Morto dopo 5 giorni per settic. carb.: diagnosi anatom. e batteriologica.
88	1150	"	"	"	"	Morto dopo 8 giorni per settic. carb.: diagnosi anatom. e batteriologica.
89	1300	"	"	"	Sottocute	Vivo
90	1250	"	"	"	"	"
91	1000	"	"	"	"	"
92	1150	"	"	"	"	"

*NB.* Due conigli di controllo inoculati sottocute con la medesima quantità e qualità di emulsione di germi del carbonchio muoiono di setticemia l'uno dopo ore 36, l'altro dopo ore 40.

TABELLA VIII.

Num. d'ordine	Peso del coniglio gm.	Data della immunizzazione	Data dell'ultima inoculazione di virus	Quantità del materiale inoculato (patina in 5 cme. di brodo)	Punto d'innesto	Esito	Osservazioni
93	1000	31 - 5 - 1902	16 - 8 - 1902	$\frac{1}{10}$ cme.	Ca m e r a anteriore occhio.	Morte dopo 32 ore	Setticemia carbon- chiosa; diagnosi a- natomica e batte- riologica.
94	1300	»	»	»	»	Morte dopo 48 ore	»
95	1200	»	»	»	»	Morte dopo 46 ore	»
96	1150	»	»	»	»	Vivo	—
97	1300	»	»	»	Sottocute	»	—
98	1200	»	»	»	»	»	—
99	1050	»	»	»	»	»	—
100	1200	»	»	»	»	»	—

*NB.* Due conigli di controllo inoculati sottocute con la medesima quantità e qualità di emulsione di bacilli del carbonchio muoiono per setticemia l'uno dopo 24 ore, l'altro dopo 23 ore.

\*  
\* \*  
\*

Anche in questa serie di esperimenti risulta come il virus carbonchioso introdotto per la via della camera anteriore dell'occhio riesce più attivo che non quando è introdotto sotto la cute. L'immunizzazione generale guadagnata con due trattamenti dall'organismo del coniglio non vale sempre a salvarlo dall'infezione per la via dell'occhio, dove, probabilmente per mancanza di poteri di difesa, il virus deve trovare le condizioni più favorevoli al suo sviluppo e forse all'esaltamento della sua virulenza.

Ripeto, come già più sopra ebbi occasione di rilevare, che sfortunato di esperienze in proposito enuncio quest'ultima affermazione in linea del tutto ipotetica. Mi riservo di fare oggetto di studio ulteriore la ricerca se l'umore acqueo e in genere gli altri liquidi endoculari costituiscano un mezzo capace di esaltare la virulenza di un germe.

\* \* \*

Altra condizione da variare nell'esperimento poteva esser quella della virulenza del materiale da inoculazione. Volendo a questo fine adoperare virus attenuati, sperimentando con germi del carbonchio, servivano egregiamente i due vaccini del Pasteur. Di una patina di cultura su agar, di 24 ore mediocrementemente sviluppata del vaccino n. 1, cioè del meno virulento, preparai una emulsione in un cmc. di brodo; di una cultura su agar del 2° vaccino, meno attenuata, emulsionai la patina in 10 cmc. di brodo.

Nelle seguenti tabelle IX e X sono riportate le esperienze comparative fra i due modi di inoculazione, usando, come materiale d'innesto, i due vaccini Pasteur.

TABELLA IX (1° vaccino Pasteur).

Numero d'ordine	Peso del coniglio — grammi	Punto d'inoculazione	Quantità materiale d'innesto patina in 1 cmc. di brodo	Esito	Osservazioni
101	1350	Camera anteriore occhio	$\frac{1}{10}$ cmc.	Vivo	
102	950	"	"	Vivo	
103	950	"	"	Morto dopo 8 giorni	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
104	1200	"	"	" 7 "	"
105	1350	"	"	Vivo	—
106	1200	"	"	Morto dopo 5 giorni	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
107	1350	"	"	" 10 "	"
108	1300	"	"	Vivo	—
109	950	Sotto cute	$\frac{1}{10}$ cmc.	"	—
110	1250	"	"	"	—
111	1100	"	"	"	—
112	1050	"	"	"	—
113	1000	"	$\frac{1}{10}$ cmc.	"	—
114	1250	"	"	Morto	Diagnosi anatomica e batteriologica negativa, rispetto a infezione carbonchiosa. — Morto per?
115	1000	"	"	Vivo	—
116	1050	"	"	"	—

TABELLA X. — (2° vaccino Pasteur).

Numero d'ordine	Peso del coniglio — grammi	Punto d'inoculazione	Quantità di materiale inoculato (patina in 30 emc. brodo)	Esito	Osservazioni
117	950	Camera anter. occhio	$\frac{1}{2}$ emc.	Morto dopo 4 giorni	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
118	1200	»	»	» 2 »	»
119	1000	»	»	» 2 $\frac{1}{2}$ »	»
120	1100	»	»	» 3 »	»
121	900	»	»	» 4 »	»
122	850	»	»	» 3 »	»
123	1300	»	»	» 2 $\frac{1}{2}$ »	»
124	1150	»	»	» 3 »	»
125	1000	Sotto cute	»	» 4 »	»
126	1400	»	»	Vivo	—
127	1250	»	»	Morto dopo 8 giorni	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
128	1000	»	»	» 6 »	»
129	850	»	»	» 8 »	»
130	950	»	»	» 5 »	»
131	1150	»	»	» 5 »	»
132	1000	»	»	Vivo	—

I risultati riferiti in queste ultime due tabelle sono assolutamente dimostrativi e depongono in modo indubbio per la maggior severità dell'infezione carbonchiosa, anche adoperando virus attenuati, quando questi prendano la via dell'occhio.

\*\*\*

Come riassunto finale delle indagini finora praticate, possiamo dire che le inoculazioni di virus carbonchioso per la camera anteriore riescono a provocare nei conigli infezioni più gravi, a decorso più rapido, come queste non si hanno con le inoculazioni ipodermiche. Anche col variare i termini dell'esperimento, servendosi di differenti quantità di materiale o modificando la tecnica delle inoculazioni nell'occhio o utilizzando un terreno da infettare già immunizzato, o valendosi di materiale infettante attenuato il risultato non cambia. Varie obiezioni però si potrebbero avanzare valevoli ad impugnare esser proprio la camera anteriore, nelle esperienze finora eseguite, la esclusiva porta d'ingresso dei germi. Non possono questi esser penetrati anche attraverso la mucosa congiuntivale integra o in qualche punto lievemente abrasa per le pratiche della inoculazione e da qui i microrganismi essersi avviati direttamente per la corrente sanguigna? Oppure questi, caduti nel sacco congiuntivale, trasportati poi per i condotti lacrimali nella cavità nasale, come affermano le ricerche di von Genderen Stort (1), non possono aver trovato lungo questo tragitto e nella detta cavità una via più facile d'attecchimento penetrando anche in tal modo nel torrente circolatorio?

A tali obiezioni non è facile rispondere facendo tesoro di semplici considerazioni teoriche ed è necessario utilizzare quei dati di fatto già esistenti e registrati per l'esperienza altrui.

In riguardo alla penetrazione dei germi attraverso la *mucosa congiuntivale* per questa, come per tutte le mucose, si è agitata la questione se possa accadere tal penetrazione senza lesione alcuna di continuo. Dapprima parve che si potesse rispondere in modo affermativo, conoscendosi che vi può attecchire il cocco della gonorrea che è causa anche della congiuntivite dei neonati. In seguito la permeabilità ai germi di tal mucosa intatta fu posta in dubbio, specialmente per quelli produttori di infezioni generali, o per lo meno si ritenne tale possibilità un avvenimento straordinariamente raro. Infatti Braunsweiger (2) sperimentando col bacillo del carbonchio, della

(1) VON GENDEREN STORT. *Ueber die mechanische Bedeutung der natürlichen Irrigation des Auges*. Archiv f. Hygiene, Bd. XIII, 1881, n. 395.

(2) BRAUNSWEIGER. *Ueber Allgemeininfektionen von der unversehrten Augenbindehaut*. Fortschr. d. Medic., 1889, n. 24.

setticemia dei topi, del colera dei polli, collo stafilococco piogeno e col tetragnono, trovò che mettendo a contatto questi germi colla mucosa congiuntivale di regola non si ottiene infezione. Altri però, tra cui Conte (1), Galtier (2), hanno, dopo Braunschweiger, dimostrato l'importanza della durata del contatto dei microrganismi colla mucosa congiuntivale per ottenere infezione generale, risultati a loro volta contraddetti da ulteriori ricerche di Brusaferrò (3) che ammette l'attecchimento dei germi solo nel caso di lesioni di continuo vere e proprie della mucosa. Dati questi risultati così discrepanti di esperienze intraprese a risolvere il quesito proposto, allo stato attuale si può ritenere che l'infezione per la via in discorso a mucosa integra non avvenga facilmente. Ricerche dapprima di Bernheim (4) e Bach (5) eseguite con molta diligenza e in seguito quelle esaurienti di De Bono e Frisco (6) mettono in rilievo l'azione battericida e attenuatrice della secrezione lacrimale, la quale inoltre possiede una azione meccanica, affermata e provata dal von Genderen Stort (7), per la quale la congiuntiva e l'occhio sono continuamente sottoposti a ripetuti lavaggi, capaci di asportare i germi ivi capitati o depositi.

I movimenti delle palpebre impediscono poi che i corpi estranei restino molto a contatto della congiuntiva e non è davvero ammissibile l'ipotesi avanzata da taluno degli autori succitati per spiegare il possibile attecchimento, che cioè, a causa della lunga dimora dei germi sulla congiuntiva, questi abbiano tempo di produrre, per mezzo di veleni, le lesioni della mucosa necessarie all'ulteriore avanzarsi dei batteri.

Recentissime ricerche di De Bono e Frisco (6) ammetterebbero la permeabilità ai germi delle mucose congiuntivale e nasale, ma i detti autori ritengono che l'esigui-simo numero di schizomiceti penetrati sia incapace a dare infezioni generali, avviati e attenuati come sono negli organi linfatici.

Tuttavia volendo contribuire con ricerche proprie alla soluzione di tal questione intrapresi esperienze sui conigli, deponendo ripetutamente, nello spazio di quattr' ore, emulsione di bacilli del carbonchio e di diplococchi di Fränkel nel cul di sacco congiuntivale.

(1) CONTE. *Sur l'absorption des virus par les muqueuses*. Revue vétérin., t. XVIII, 1893.  
(2) GALTIER. *Traité des maladies contagieuses, etc.*, 1892. Journal de Med. Vétér. et de Zootechnie. Avril 1900.

(3) BRUSAFERRÒ. *Il virus carbonchioso deposto sul sacco congiuntivale determina l'infezione?* Moderno Zooliatra, n. 1, 1901.

(4) BERNHEIM. *Ueber die Antisepsis des Bindehautsackes und bacterienfeindliche Eigenschaften der Thränen*. Beitr. zur Augenheilk. von Deutschmann, 1893.

(5) BACH. *Ueber der Keimgehalt des Bindehautsackes*. Graefe's Archiv. Bd. XL, 3 Heft.

(6) IDEM. *Bemerkungen zu der Arbeit der Herr G. Ahlström • Ueber die Antiseptische Wirkung der Thränen*. Archiv f. Augenheilk. XXXIII.

(7) DE BONO e FRISCO. *Sul comportamento della ghiandola lacrimale e del suo secreto verso i microrganismi*. Lavori di Labor. public. dal prof. MANFREDI. Anno V, 1899-1901.

(7) VON GENDEREN STORT. *Loco citato*.

Alcuni di questi conigli erano trattati nei tre giorni precedenti all'esperimento e poco prima di questo, con larghe instillazioni di soluzioni di idroclorato di cocaina al 4 %, che, come si sa per la pratica degli oculisti, danneggia fortemente l'epitelio corneale e congiuntivale.

Oltre a ciò, la cocaina si prestava bene alla ricerca quale medicamento capace di paralizzare i movimenti ameboidi dei leucociti, e quindi, reso impotente un meccanismo di difesa, più facile poteva essere l'attaccamento dei bacilli carbonchiosi. Tali esperimenti sono riassunti nella tabella seguente :

TABELLA XI.

Numero d'ordine	Peso del coniglio — grammi	Qualità e quantità di virus instillato nel sacco congiuntivale	Esito	Osservazioni
133	1350	$\frac{1}{10}$ cmc. emulsione patina carb. in 20 cmc. brodo	Nessuna alterazione - Vivo	
134	1000	» » »	»	
135	950	» » »	»	
136	1100	» » »	»	
137	850	» » 10 cmc. brodo	»	
138	1000	» » «	»	
139	1400	» » »	»	
140	1350	» » »	»	
141	900	» » 5 cmc. brodo	»	
142	1400			
143	1200			
144	1050			
145	1250	$\frac{1}{10}$ cmc. emuls. patina diplocooco in 5 cmc. brodo	»	
146	1000	» » »	»	
147	950	» » »	»	
148	1300	» » »	»	
149	1250	» » »	»	
150	1000	» » »	»	
151	950	» » »	»	
152	1000	» » »	»	
153	1000	» » »	»	
154	1150	» » »	»	

Contro l'obbiezione di piccole abrasioni della mucosa congiuntivale, facili ad accadere nell'esperimento e che avrebbero costituito l'adito ai germi, sembrano di potermi schermire col fatto della costanza dei risultati da me ottenuti. Questi infatti depongono con una impressionante persistenza sulla morte più rapida degli animali quando l'inoculazione sia fatta nell'occhio che non nella cute. Se l'infezione fosse spesso accaduta attraverso la mucosa congiuntivale per lo meno era da aspettarsi un decorso identico a quello consecutivo ad inoculazione per la cute e non più grave e la morte dell'animale non sarebbe accaduta più precocemente, come era dato a me di osservare il più delle volte.

Che i germi penetrati nella cavità nasale avessero, quivi o lungo i condotti lacrimali, potuto trovare la via più facile per l'attecchimento non risulta da esperimenti di altri e dai miei testè citati, nei quali non solo deponevo nei fornicj congiuntivali i microrganismi, ma si può dire inondavo con questi la superficie congiuntivale e facile era che essi pervenissero in basso superando le vie lacrimali. Questi risultati sono però in contrasto con quelli ottenuti da Roemer (2) nell'esperimento indirizzato alla soluzione dello stesso problema. Roemer appunto fu spinto a ritenere che l'assorbimento di germi instillati nella congiuntiva non avviene su questa, ma per la mucosa nasale. Alle vedute di Roemer sembra adattarsi G. Meyer (3) il quale ultimamente inoculando nel sacco congiuntivale culture molto virulente di carbonchio, murisettico, peste e tetano, ottenne l'infezione generale in un tempo più o meno breve; laddove ebbe risultati non sempre positivi cogli stafilococchi, coi bacilli del tifo, del colera e della difterite. Da ultimo De Bono e Frisco (4) ammettono la permeabilità dei germi nella mucosa nasale e credono che, avvenendo la penetrazione in piccolissimo numero essi siano portati ai gangli linfatici e quivi attenuati; non escludono però che, data l'abbondanza e la virulenza del virus, possa avvenire infezione generale per tal via. Sebbene questo notevole disaccordo di conclusioni in base ad esperimenti fatti dagli altri e da me lasci indifesa l'obbiezione, che si potrebbe elevare ai risultati delle ricerche da me intraprese, impugnando questi con l'asserita penetrazione di germi per la mucosa nasale, io ritengo tuttavia che questa, alla fin dei conti, non abbia un gran peso e non costituisca il fatto più ovvio a verificarsi. Non invoco la nozione acquisita alla scienza circa le proprietà

(1) DE BONO e FRISCO. *Sulla permeabilità verso i microrganismi delle mucose congiuntivale e nasale intatte in rapporto alle infezioni endocentrali*. Lavori del prof. MANFREDI, anno V, 1899-1901.

(2) ROEMER. *Experimentelle Untersuchungen über Infection vom Conjunctivalsack*. Zeitschr. f. Hygien. u. Inf. 1899, Bd. XXXIII.

(3) MEYER. *Zur Kenntniss der Infection vom Conjunctivalsack* aus. Münchn. medicin. Wochens., 1900, n. 34.

(4) DE BONO e FRISCO, loc. cit.

sfavorevoli alla moltiplicazione dei germi della secrezione nasale, nè l'azione addirittura battericida di questa, ammessa da taluni batteriologi, mezzi di difesa incapaci e impotenti a fronteggiare la quantità di germi non lieve. Ripeto di ritenere fondatamente che se l'infezione può accadere per la via nasale e non per la camera anteriore, ciò deve considerarsi come un avvenimento del tutto eccezionale. E tanto più mi attengo a tale opinione per il fatto di un edema da me osservato nel muso del coniglio solo tre volte nelle numerose inoculazioni praticate nella camera anteriore col virus carbonchioso, edema che s'iniziava dalla cavità nasale lasciando da principio integre e senza alterazioni le palpebre. Io ritenni in tali casi (da me non utilizzati per le conclusioni) che appunto dalla cavità nasale avesse avuto origine la infezione e da ciò l'edema manifestatosi al muso.

II. — *Inoculazioni di virus carbonchioso e di siero immunizzante.*

Esaurita la riferita serie di esperienze preliminari e dimostrata pel carbonchio la maggiore gravità dell'infezione quando la camera anteriore dell'occhio costituisce la porta d'entrata dei germi, il quesito che m'era proposto da studiare si delineava nel seguente modo: dato nell'infezione carbonchiosa sperimentale il diverso decorso a seconda del punto di penetrazione dei germi, osservare se l'efficacia del siero anticarbonchioso si mantenga uguale e nei conigli infettati per la cute e in quelli per la via dell'occhio.

Ripetuti e numerosi furono gli esperimenti da me praticati variando, per ogni gruppo di essi, volta per volta la dose del materiale infettivo da inoculare, la quantità e la qualità del siero immesso per le vene. In tali esperimenti torno a far notare che sebbene per le due vie, occhio e cute, s'impiegassero le medesime dosi di emulsione, tuttavia la quantità dei germi introdotta nell'uno e nell'altro caso doveva essere notevolmente differente a causa del rigurgito di liquido che avviene dalla camera anteriore quando si estrae l'ago; rigurgito che, ripeto, rende impossibile l'esatto dosaggio del materiale impiegato.

A rendere sempre più accentuata la differenza spesso si impiegavano negli innesti ipodermici dosi doppie di quelle adoperate per le inoculazioni endoculari.

La tecnica adoperata per le inoculazioni del virus carbonchioso nella camera anteriore, era identica a quella accennata nel principio del presente lavoro. Anche qui si era scrupolosi nel porre da parte come non utilizzabili, quei conigli in cui si poteva dubitare della perfetta riuscita dell'innesto nell'occhio o si temeva di aver ferito con la punta dell'ago qualche parte dell'iride o della congiuntiva.

Espongo dapprima in singole tabelle (XII, XIII, XIV e XV) i risultati ottenuti per poi discuterli ampiamente e rilevarne alcune particolarità che mi fu dato osservare durante gli esperimenti.

TABELLA XII.

Numero d'ordine	Peso del coniglio — grammi	Quantità di emulsione di carbonchio inoculata	Punto della inocolazione della emulsione di carbonchio	Quantità di siero anticarbonchioso iniettato in vene	Esito	Osservazioni
155	1250	$\frac{1}{10}$ cmc. patina in 5 cmc. brodo.	Occhio	5 cmc. siero d'asino	Morto dopo 10 giorni	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
156	1100	"	"	"	" 17 "	"
157	1000	"	"	"	" 8 "	"
158	1150	"	"	"	" 17 "	"
159	1000	"	"	"	Vivo	—
160	950	"	"	"	Morto dopo 12 giorni	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
161	1300	"	"	"	Vivo	—
162	1000	"	"	"	Morto dopo 14 giorni	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
163 Controllo	900	"	"	Senza siero	" 16 ore	"
164 Controllo	1400	"	"	"	" 18 "	"
165	1400	"	Cute	5 cmc. siero d'asino	Vivo	—
166	1250	"	"	"	"	—
167	1000	"	"	"	Morto dopo 18 giorni	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
168	950	"	"	"	Vivo	—
169	1050	"	"	"	"	—
170	1200	"	"	"	Morto dopo 20 giorni	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
171	1000	"	"	"	Vivo	Paralisi treno posteriore 51° giorno dall'inoculazione con esito in morte.
172	1100	"	"	"	"	—
173 Controllo	900	"	"	Senza siero	Morto dopo 24 ore	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
174 Controllo	1250	"	"	"	" 33 "	"

Riassumendo, in questo gruppo di esperienze su 8 conigli, inoculati nell'occhio con la dose di emulsione surriferita e a cui erano stati iniettati nelle vene pochi minuti prima 5 cmc. di siero, tratti dal salasso di un asino immunizzato di carbonchio, 6 morirono di setticemia carbonchiosa dopo un lasso di tempo dagli 8 ai 17 giorni dall'inoculazione e due si salvarono. I due controlli inoculati nell'occhio con l'identico virus e con la medesima quantità di emulsione di germi del carbonchio, morirono entro 24 ore dalla inoculazione.

Di 8 conigli trattati parimenti con iniezione endovenosa di 5 cmc. di siero di asino immunizzato e poco dopo con virus carbonchioso sotto la cute, 6 si salvarono e 2 morirono, l'uno 20 giorni dopo, e l'altro dopo 18 giorni. Fra i salvati è da notare uno che al 51° giorno dopo l'inoculazione presentò paralisi del treno posteriore. Segnalo qui questo fatto, che essendosi ripetuto in altri conigli sottoposti all'esperimento, merita in seguito una più minuta descrizione e più completa discussione sul suo significato e sulla sua genesi.

TABELLA XIII.

Numero d'ordine	Peso del coniglio — grammi	Quantità di virus carbonchioso inoculato	Punto della inoculazione	Quantità di siero anti-carbonchioso iniettato per le vene	Esito	Osservazioni
175	850	$\frac{2}{100}$ eme. emulsione patina in 10 eme. brodo.	Occhio	5 eme. siero d'asino	Morto dopo 12 giorni	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
176	1200	"	"	"	" 14 "	"
177	1150	"	"	"	Vivo	—
178	1300	"	"	"	"	—
179	1000	"	"	"	"	—
180	1100	"	"	"	"	—
181	1400	"	"	"	Morto dopo 10 giorni	Sett. carb.: diag. anat. e batt.
182	1200	"	"	"	Vivo	"
183 Controllo	1300	"	"	senza siero	Morto dopo 40 ore	Sett. carb.: diag. anat. e batt.
184 Controllo	1100	"	"	"	" 44 "	"
185	1000	"	Cute	5 eme. siero d'asino	Vivo	—
186	950	"	"	"	"	—
187	980	"	"	"	Morto dopo 14 giorni	Sett. carb.: diag. anat. e batt.
188	1300	"	"	"	Vivo	—
189	1000	"	"	"	"	—
190	1000	"	"	"	"	—
191	1200	"	"	"	Morto dopo 7 giorni	Nè anatomiche, nè batteriologiche, fu potuta accertare la diagnosi.
192	1250	"	"	"	Vivo	—
193 Controllo	1350	"	"	senza siero	Morto dopo 67 ore	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
194 Controllo	1000	"	"	"	" 40 "	"

In questo secondo gruppo di esperienze nel quale, rispetto al primo, non era variata che la sola quantità di virus inoculato, eguale tanto per l'occhio quanto per la cute, si ebbero i risultati seguenti:

Di 8 conigli trattati con siero d'asino e virus nell'occhio, 3 morirono di setticemia carbonchiosa e 5 si salvarono.

I due controlli morirono dopo 40-44 ore di setticemia carbonchiosa.

Di altri 8 conigli, trattati con siero di asino e virus nella cute, 6 si salvarono e 2 morirono. In uno di questi, morto dopo 14 giorni, fu constatato trattarsi di carbonchio tanto al reperto dell'autopsia quanto dai preparati colorati e dai caratteri delle culture in cui era innestato sangue del cuore dell'animale perito. Nell'altro, non ostante tutte le investigazioni, non si riuscì a rilevare la causa della morte.

I due controlli inoculati sotto la cute con l'identico virus e colla medesima quantità decedero dopo 40-67 ore.

TABELLA XIV.

Numero d'ordine	Peso del coniglio — grammi	Quantità di virus	Punto della inoculazione	Quantità del siero	Esito	Osservazioni
195	1200	$\frac{1}{2}$ cmc. emulsione patina in 20 cmc. brodo.	Occhio	5 cmc. siero miscela	Morto dopo 3 giorni	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
196	1100	"	"	"	" 2 $\frac{1}{2}$ "	"
197	850	"	"	"	" 5 "	"
198	1000	"	"	"	" 3 "	"
199	1100	"	"	"	" 4 "	"
200	1150	"	"	"	Vivo	—
201	1200	"	"	"	"	—
202	950	"	"	"	"	Paralisi treno posteriore ed anteriore dopo 33 giorni-morto.
203 Controllo	1100	"	"	Senza siero	Morto dopo 32 ore	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
204 Controllo	1200	"	"	"	" 38 "	"
205	1000	$\frac{1}{40}$ cmc. emulsione patina in 20 cmc. brodo.	Cuta	4 cmc. siero miscela	Vivo	—
206	980	"	"	"	"	—
207	1150	"	"	"	"	41 giorni dopo l'inoculazione paralisi treno posteriore.
208	1100	"	"	"	"	—
209	1000	"	"	"	Morto dopo 5 giorni	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
210	1350	"	"	"	" 8 "	"
211	1200	"	"	"	Vivo	36 giorni dopo l'inoculazione paralisi treno posteriore.
212	980	"	"	"	Morto dopo 6 giorni	Setticemia carbonchiosa: diagnosi anatomica e batteriologica.
213 Controllo	1200	"	"	Senza siero	" 34 ore	"
214 Controllo	1150	"	"	"	" 36 "	"

Il siero anticarbonchioso adoperato per le esperienze sopra riferite era costituito da una miscela di sieri di tre pecore. Nei conigli, trattati con carbonchio nell'occhio, se ne iniettò nelle vene 5 cmc.; in quelli infettati per la pelle 4 cmc. In questi ultimi poi la dose di virus innestata era il doppio di quella adoperata per l'occhio. Non ostante la minor quantità di siero e la doppia dose di virus usati per gli 8 conigli sottoposti all'inoculazione ipodermica, di essi 5 si salvarono. Fra questi uno al 41° giorno fu colpito da paralisi del treno posteriore — che rimase ivi localizzata — senza estendersi ed un altro ugualmente al 36° giorno fu colpito da ugual paralisi. Gli altri 3 perirono per carbonchio in un periodo di tempo che oscillò dai 4 agli 8 giorni dopo l'inoculazione.

I due controlli morirono in 32-38 ore.

Degli 8 conigli trattati con siero e virus nell'occhio nelle proporzioni esposte nelle tabelle, 5 morirono dopo 2-6 giorni, 2 sopravvissero, ed uno colpito al 33° giorno da paralisi del treno posteriore all'arto sinistro, che si diffuse poche ore dopo decedè all'8° giorno dall'inizio di tale avvenimento totalmente paralizzato.

I due controlli trovarono la morte dopo 34-36 ore.

TABELLA XV.

Num. d'ordine	Peso del coniglio grammi	Quantità di virus carbonchioso inoculato	Punto della inoculazione	Quantità del siero	Esito	Osservazioni
215	1300	$\frac{1}{20}$ di emulsione di patina in 20 cme. di brodo.	Occhio	3 cme. di siero di miscela.	Morto dopo 3 giorni	Setticemia carbonchiosa. Diagnosi anatomica e batteriologica.
216	950	»	»	»	» 2 $\frac{1}{2}$ »	»
217	1250	»	»	»	» 4 »	»
218	1100	»	»	»	» 2 »	»
219	1350	»	»	»	» 5 »	»
220	1100	»	»	»	» 2 $\frac{1}{2}$ »	»
221	1000	»	»	»	» 3 »	»
222	1000	»	»	»	» 30 »	»
223	980	»	»	Senza siero	» 32 ore	»
224	1200	»	»	»	» 32 »	»
225	1100	»	Cute	3 cme. di siero di miscela.	» 6 giorni	»
226	1400	»	»	»	» 4 »	»
227	1350	»	»	»	Vivo	
228	950	»	»	»	Vivo	
229	1000	»	»	»	Morto dopo 5 giorni	Sett. carb.: d. anat. batter.
230	1000	»	»	»	» 4 »	»
231	1450	»	»	»	Vivo	
232	1400	»	»	»	Vivo	
233	1250	»	»	Senza siero	Morto dopo 36 ore	Sett. carb.: d. anat. batter.
234	1100	»	»	»	» 44 ore	»

In questa ultima serie di esperienze si utilizzò una più scarsa dose di siero (3 cmc.) della miscela e la quantità di virus inoculato fu la medesima tanto per la camera anteriore dell'occhio quanto per la cute.

I conigli trattati con siero e cultura di carbonchio nell'occhio perirono tutti fra 2 e 5 giorni.

I due controlli trovarono la morte entro le 32-38 ore.

Dei trattati con siero e cultura sotto cute 4 morirono di setticemia carbonchiosa e gli altri 4 sopravvissero.

I due controlli decedettero dopo 36-41 ore dall'innesto.



Come riassunto finale delle inoculazioni di virus carbonchioso e siero immunizzante Sclavo possiamo dire che di 16 conigli infettati per l'occhio con dose variabile di virus e trattati con siero di asino se ne salvarono 7 e ne morirono 9.

Di altri 16 iniettati pure nell'occhio con l'identica quantità di virus e trattati con siero poco efficace (miscela) ed in minor quantità dei precedenti, sopravvissero 3 e 13 perirono. In totale su 32 conigli di questa categoria si ebbero 22 morti e 10 immunizzati: di fronte ai quali stanno altri 32 conigli trattati con varia quantità di siero anticarbonchioso di vario potere e inoculati con cultura di carbonchio sotto cute dei quali riuscirono a salvarsi 21 e 11 perirono per setticemia carbonchiosa.

### III. — *Inoculazioni di diplococco e siero immunizzante Pane.*

Come nelle infezioni sperimentali prodotte dal microrganismo del carbonchio ematico, così anche in quelle suscitate dal diplococco, mi prefissi di studiare il valore immunizzante del siero Pane, qualora il germe fosse inoculato nella camera anteriore dell'occhio. Volli da prima ripetere anche per questo microrganismo le prove preliminari, comparando il destino di conigli inoculati sotto la cute e quello degli inoculati nella camera anteriore con la medesima quantità di virus. Usai dosi di questo differenti e partendo da quantità generose pervenni ad inoculare quantità minime, valendomi al solito del cottellino di Gräfe intriso di una emulsione in brodo di germi.

Il virus da inoculare era costituito costantemente da una emulsione in brodo di una patina di cultura di diplococco, su agar, mediocrementemente sviluppata, tenuta per 24 ore al termostato a 35°.

La cultura era stata ottenuta infettando un coniglio col contenuto di un

uovo, inoculato, secondo il metodo Selavo, un mese prima con sangue di un coniglio morto di infezione diplococcica.

La cultura venne durante le mie esperienze, mantenuta attiva con successivi passaggi nel coniglio e con ripetuti trasporti su nuovi mezzi nutritivi.

Avvenuta la morte dell'animale praticava l'autopsia e confermava la diagnosi anatomico-patologica con la ricerca batteriologica, eseguendo dal contenuto dell'occhio del cadavere del coniglio (se quivi inoculato) e dal sangue del cuore preparati colorati e culture in agar ed in brodo.

Per brevità riporto nelle tabelle seguenti (tab. XVI, XVII, XVIII, XIX), gli esperimenti praticati, facendo al solito notare che i casi riferiti rappresentano solo una parte dei conigli inoculati, quelli cioè nei quali la precisione e l'esattezza della tecnica non lasciava adito a dubbio alcuno.

TABELLA XVI.

Numero d'ordine	Peso del coniglio — grammi	Quantità di virus inoculato	Punto d'innesco	Esito	Osservazioni
235	1200	$\frac{1}{10}$ emc. emulsione patina in 5 emc. di brodo.	Occhio	Morto dopo 26 ore	Setticemia diplococeica. Diagnosi anatomica e batteriologica.
236	1250	»	»	» 18 »	»
237	1000	»	»	» 20 »	»
238	1050	»	»	» 18 »	»
239	1350	»	»	» 24 »	»
240	1100	»	»	» 38 »	»
241	1000	»	»	» 20 »	»
242	950	»	»	» 50 »	»
243	950	»	Cute	» 20 »	»
244	1300	»	»	» 58 »	»
245	1100	»	»	» 48 »	»
246	1250	»	»	» 60 »	»
247	1150	»	»	» 24 »	»
248	1000	»	»	» 52 »	»
249	980	»	»	» 28 »	»
250	1150	»	»	» 38 »	»

TABELLA XVII.

Numero d'ordine	Peso del coniglio — grammi	Quantità di virus inoculato	Punto d'innesto	Esito	Osservazioni
251	1150	$\frac{1}{20}$ cmc. emulsione in 5 cmc. di brodo	Occhio	Morto dopo 24 ore	Setticemia diplococcica. Diagnosi anatomica e batteriologica.
252	1300	»	»	Vivo!	—
253	1200	»	»	Morto dopo 22 ore	Setticemia diplococcica. Diagnosi anatomica e batteriologica.
254	1300	»	»	» 50 »	»
255	1400	»	»	» 20 »	»
256	1000	»	»	» 24 »	»
257	950	»	Cute	» 45 »	»
258	1200	»	»	» 36 »	»
259	1250	»	»	» 48 »	»
260	1300	»	»	» 24 »	»
261	1100	»	»	» 52 »	»
262	1250	»	»	» 38 »	»

TABELLA XVIII.

Numero d'ordine	Peso del coniglio — grammi	Quantità di virus inoculato	Punto d'innesto	Esito	Osservazioni
263	1100	$\frac{2}{20}$ cmc. emulsione di patina in 10 cmc. di brodo.	Occhio	Morto dopo 30 ore	Setticemia diplococcica. Diagnosi anatomica e batteriologica
264	1100	»	»	» 50 »	»
265	1200	»	»	» 32 »	»
266	950	»	»	» 48 »	»
267	1300	»	»	» 40 »	»
268	1000	»	»	» 52 »	»
269	1000	»	Cute	» 48 »	»
270	1300	»	»	» 70 »	»
271	950	»	»	» 36 »	»
272	1150	»	»	» 32 »	»
273	1350	»	»	» 58 »	»
274	1200	»	»	» 60 »	»

TABELLA XIX.

Numero d'ordine	Peso del coniglio grammi	Quantità di virus inoculato	Punto d'innesto	Esito	Osservazioni
275	1300	Germi aderenti coltellino Gräfe	Occhio	Morto dopo 36 ore	Setticemia diplococcica. Diagnosi anatomica e batteriologica.
276	1000	"	"	" 58 "	"
277	950	"	"	" 50 "	"
278	1200	"	"	" 40 "	"
279	1050	"	"	" 48 "	"
280	1000	"	"	" 46 "	"
281	1050	"	Cute	" 58 "	"
282	1100	"	"	" 60 "	"
283	1300	"	"	" 64 "	"
284	1250	"	"	" 60 "	"
285	1000	"	"	" 68 "	"
286	890	"	"	" 48 "	"

*NB.* L'emulsione in cui era bagnato il coltellino era fatta sospendendo la patina di coltura di diplococco, su agar, di 24 ore in 5 cmc. di brodo.

Dai risultati riferiti nelle tabelle ultime (XVI, XVII, XVIII, XIX), riguardanti le inoculazioni di diplococco di Fränkel nei conigli, emerge anche per questo microrganismo, come per quello del carbonchio, la sua maggiore virulenza, allorchè esso venga iniettato nella camera anteriore dell'occhio. Anche inoculando in questo punto quantità limitata di germi, quali possono aderire ad un coltellino di Gräfe semplicemente bagnato in una emulsione di diplococco in brodo, la morte del coniglio non tarda a venire e fatalmente l'animale soccombe in tempo più rapido che non quando lo stesso virus in egual dose e con l'identica tecnica sia immesso sotto la pelle.

Con l'acquisto di tali risultati, ottenuti con le inoculazioni di diplococco, la ricerca dell'efficacia del siero anti-pneumonicò, a seconda del punto di penetrazione dei germi, aveva una base identica a quella presentata dal virus carbonchioso.

Il siero adoperato è quello proposto dal prof. Pane, preparato nell'Istituto siero-terapico napoletano, ove il detto siero è ricavato dagli asini ad alta immunizzazione.

Mi servivo della qualità di siero n. 2, dichiarato capace di neutralizzare nella quantità di 1 cmc. non meno di 3000 dosi mortali di pneumococchi.

Riferisco nella tabella seguente (XX) le varie esperienze eseguite in tempi diversi inoculando nelle vene differenti quantità di siero.

In calce ad ogni gruppo di esperimenti è riportato l'esito delle inoculazioni sottocutanee eseguite sui conigli a scopo di controllo.

Le ricerche col siero antipneumonicò Pane furono praticate in numero limitato non potendo disporre di quello in quantità rilevante senza notevole dispendio di danaro.

TABELLA XX.

Numero d'ordine del coniglio	Data dell'esperimento	Peso del coniglio — grammi	Quantità di siero inoculato nelle vene	Quantità di virus inoculato di virus inoculato	Punto d'innesto del virus	Esito	Osservazioni
287	3-IX-1902	1400	5 cmc.	$\frac{1}{40}$ cmc. emulsione patina in 5 cmc. di brodo	Camera anteriore	Morte dopo 10 giorni	Panoflabrite, setticemia diplococcica. — Diagnosi anatomica e batteriologica.
288	*	1150	*	*	*	5 *	*
289	*	1200	*	*	*	7 *	*
290	*	1150	*	*	Cute	Vivo	Non edema locale.
291	*	1400	*	*	*	*	*
292	*	1450	*	*	*	*	*
293	*	1100	Senza siero	*	*	Morte dopo 24 ore	Setticemia diplococcica.
294	*	1300	*	*	*	40 *	*
295	*	1000	*	*	*	28 *	*
296	8-IX-1902	1150	2 cmc.	*	Camera anteriore	Vivo	Essudato camera anteriore. 22 giorni dopo: paralisi treno posteriore.
297	*	950	*	*	*	Morte dopo 48 ore	Setticemia diplococcica.
298	*	900	*	*	Cute	4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> giorni	Edema lieve punto innesto.

Segue TABELLA XX.

Numero d'ordine del coniglio	Data dell'esperimento	Peso del coniglio grammi	Quantità di sieroinoculato nelle vene	Quantità di virus inoculato	Punto d'innesto del virus	Esito	Osservazioni
299	8-IX-1902	1000	2 emc.	$\frac{1}{10}$ emc. emulsione patina in 5 emc. di brodo	Cute	Morte dopo 5 giorni	Edema lieve punto innesto.
300	"	1000	Senza siero	"	"	" 28 ore	Setticemia diplococcica.
301	"	1700	"	"	"	" 36 "	"
302	10-IX-1902	1200	1 emc.	"	Camera anteriore	" 56 "	"
303	"	1100	"	"	"	" 50 "	"
304	"	1000	"	"	"	" 48 "	"
305	"	1350	"	"	"	" 48 "	"
306	"	1220	"	"	"	Vivo	Non edema punto innesto.
307	"	1300	"	"	Cute	Morte dopo 4 giorni	Setticemia diplococcica.
308	"	1100	"	"	"	" 3 "	"
309	"	980	"	"	"	" 4 "	"
310	"	1500	Senza siero	"	"	" 30 ore	"
311	"	1450	"	"	"	" 38 "	"

\*  
\*  
\*

Di fronte ai risultati ottenuti si impone la conclusione della minore efficacia del siero anticarbonchioso e di quello antipneumonico quando il coniglio acquisti l'infezione per la via dell'occhio.

Sono così evidenti e così costanti i risultati, tratti dall'esperimento, che non si può negare ad essi il più grande valore probativo. Tanto più poi spicca l'importanza loro quando si consideri il fatto, già messo in rilievo, circa la differente quantità di germi impiegati ad infettare il coniglio, rispettivamente per la via della cute e dell'occhio, per questa incomparabilmente minore a causa della fuoriuscita del liquido dalla camera anteriore, quando si estrae l'ago.

Molto probabilmente questa minore azione dei due sieri deve porsi in rapporto con la maggiore gravità dell'infezione, quando questa abbia avuto per porta di ingresso la camera anteriore dell'occhio: che anzi parmi possa affermarsi che l'un fatto sia in relazione e in appoggio dell'altro.

Ho già ricordato che per quanto riguarda il carbonchio dei piccioni Metchinikoff ritiene più grave l'infezione quando il germe penetri nella camera anteriore dell'occhio anziché sotto cute, ma anche per altre infezioni si conosceva la severità di esse quando i germi fossero innestati per quella via. Così è conosciuto che la rabbia si sviluppa più sicuramente, quando il virus vien depresso nella camera anteriore, che non quando è messo sotto cute.

Sin dall'inizio delle ricerche batteriologiche Cohnheim e Baumgarten riconobbero che l'introduzione del materiale infettante nella camera anteriore dell'occhio era mezzo securissimo per produrre la tubercolosi.

Roger (1) ha, inoltre, dimostrato come il virus del carbonchio sintomatico, che non esercita alcuna azione nociva sul coniglio, si sviluppa facilmente e dà luogo alla morte dell'animale, quando l'inoculazione è praticata nella camera anteriore, che anzi è questo il solo punto dell'organismo in cui si ottiene un facile risultato.

Potrebbe da taluno sospettarsi che i miei risultati si trovino in totale opposizione e in completo disaccordo con quelli ottenuti da Manfredi e Viola, i quali pure introdussero germi per la camera anteriore ed ottennero la salvezza dei loro animali e non una più grave infezione. Ora nulla osta a ritenere come avvenimento possibile che inoculando per tal via germi in quantità straordinariamente minima non riescano questi a infettare un organismo, trattiene ed attenuati nelle maglie dei gangli linfatici, ma ammettendo anche

(1) ROGER. *Le malattie infettive*. Pag. 155. Trad. riveduta da B. Silva. Torino, 1903.

ciò non è implicitamente consentito che quantità maggiori di parassiti innestati nella camera anteriore debbano pur essere meno virulente. Invece alla stregua dell'esperimento poteva ben accadere, come è occorso a me di rilevare, che dosi più rilevanti introdotte per l'occhio esercitassero un potere infettante massimo ed anche più grande di quello che avrebbero manifestato se introdotte sotto la pelle del coniglio.

I due effetti diametralmente opposti: piccola dose di virus-immunizzazione dell'animale; dose poco maggiore-infezione gravissima, quando sieno considerati con superficialità potrebbero parere quasi paradossali, ciò che non è in realtà quando si cerchi di mettere in evidenza con la dovuta critica le ragioni e gli argomenti capaci di spiegare, almeno in via ipotetica, il decorso più grave di un'infezione che abbia avuto per punto di partenza l'occhio. In questa parte dell'organismo infatti i mezzi di difesa debbono essere probabilmente limitatissimi. Ammessa la camera anteriore dell'occhio come una delle parti dell'organismo più deboli ed indifese ben si comprende come ivi giunti i germi in dose superiore alla mortale minima vi possano mantenere indisturbata la loro virulenza ed indisturbati moltiplicarsi, preparando così una carica infettiva a cui l'organismo ricettivo infettato non può far argine e deve fatalmente soccombere in modo più rapido, nonostante le difese messe in opera. Laddove ben altrimenti procederebbero le cose quando i germi penetrati nella camera anteriore sieno in pochissimo numero. Quindi per quanto rapida sia la loro moltiplicazione non possono divenire così numerosi da poter progredire oltre con immutata virulenza forzando le barriere che loro si oppongono, ma scarsi, come sono, spinti dal corso ineluttabile del circolo linfatico nei gangli trovano in questi la loro attenuazione.

\* \* \*

Un fatto che mi è occorso di osservare ripetutamente durante i riferiti esperimenti e che merita di essere segnalato è quello su cui già richiamò per primo l'attenzione Sclavo (1), cioè delle paralisi tardive presentate dai conigli inoculati contemporaneamente di un virus e di siero immunizzante o semplicemente di solo virus.

I conigli che andarono incontro a tale incidente furono in numero di sei sopra 312 su cui sperimentai e sebbene di tale contingenza morbosa se ne sia accennato nelle tabelle riassuntive delle osservazioni fatte, credo

---

(1) A. SCLAVO. *Sulle paralisi tossiche di natura carbonchiosa*. Atti della R. Accademia dei Fisiocritici, Serie IV, vol. XIII.

opportuno riferire qui più minutamente la storia di ciascuno dei sei conigli.

CONIGLIO *A* (n. 72) grammi 1150.

2 agosto 1902. S'inocula il coniglio nella camera anteriore dell'occhio mediante un coltellino Gräfe bagnato in un'emulsione in 20 cmc. di brodo di patina di coltura di carbonchio.

1 settembre 1902 (31° giorno). Si trova al mattino con paralisi di moto e di senso degli arti posteriori e con perdita delle urine e delle feci.

8 ottobre 1902. Morte.

CONIGLIO *B* (n. 202) grammi 1300.

15 agosto 1902. L'animale è inoculato nella camera anteriore dell'occhio con 1/20 di cmc. di emulsione di patina di coltura di carbonchio su agar in 20 cmc. di brodo e poco dopo riceve nelle vene 5 cmc. di siero miscela.

17 settembre 1902 (33° giorno). Al mattino paralisi di moto e di senso degli arti posteriori, nel pomeriggio la paralisi si estende all'arto anteriore sinistro. V'è perdita di feci e di urina.

Nei giorni seguenti la paralisi è completa nei quattro arti, la presa del cibo è impossibile ed il coniglio viene alimentato artificialmente.

25 settembre 1902. Morte.

CONIGLIO *C* (n. 211) grammi 1600. 15 agosto 1902.

Si pratica dapprima inoculazione sottocutanea di 1/10 di cmc. di emulsione in 20 cmc. di brodo di patina di coltura di carbonchio su agar e subito dopo il coniglio riceve nelle vene 4 cmc. di siero di miscela.

20 settembre 1902 (36° giorno). Paralisi di moto e di senso arti posteriori e paralisi vescicale e rettale.

24 settembre. La paralisi si estende agli arti anteriori. Nutrizione difficile.

28 settembre. Ipertonìa degli arti posteriori.

10 ottobre 1902. Morte.

CONIGLIO *D* (n. 171) grammi 1200.

6 agosto 1902. Riceve 5 cmc. di siero d'asino nelle vene e poco dopo sotto la pelle 1/10 di cmc. di un'emulsione di patina di coltura di carbonchio su agar in 5 cmc. di brodo sterile.

26 settembre 1902 (51° giorno). Paralisi di moto e di senso del treno posteriore: l'animale perde urina e fecce.

5 ottobre. Contraffatura agli arti paralizzati.

19 ottobre. Morte.

CONIGLIO *E* (n. 207) grammi 1050.

15 agosto 1902. Si pratica dapprima inoculazione sottocutanea di 1/10 cmc. di emulsione in 20 cmc. di brodo di patina di coltura su agar di carbonchio e subito dopo si inietta nelle vene 5 cmc. di siero miscela.

25 settembre 1902 (41° giorno). Paralisi del treno posteriore come nel coniglio *A*.

4 ottobre 1902. Stato ipertonico degli arti paralizzati.

28 ottobre 1902. Morte.

CONIGLIO *F* (n. 296) grammi 1150.

8 settembre 1902. Riceve un'iniezione endovenosa di 2 cmc. di siero Panc

n. 2 e contemporaneamente 1/10 di cmc. di emulsione di pneumococco (patina cultura su agar sospesa in 5 cmc. di brodo sterile).

30 settembre 1902. Paralisi di moto e di senso del treno posteriore.

8 ottobre. La paralisi s'è estesa agli arti anteriori.

Il coniglio è alimentato artificialmente.

8 ottobre 1902. Morte.

Riassumendo, i fenomeni nervosi si presentarono in 5 conigli infettati di carbonchio ed in uno solo inoculato di diplococco e tra i carbonchiosi 4 avevano ricevuto cultura e siero ed uno solo cultura.

Sclavo invece constatò le paralisi solo che nei casi in cui si era iniettato siero e cultura.

Io ottenni tali paralisi sia in seguito alla iniezione endoculare, che a quella sottocutanea del virus carbonchioso.

In quanto alle paralisi di origine diplococcica nessuno ne parla tranne Tizzoni e Panichi (1), nella recentissima loro pubblicazione sul siero antipneumococcico e in un'altra precedente (2).

Considerando i soli conigli infettati di carbonchio, per poter stabilire la sede della lesione nervosa e tentare quindi di tracciare la patogenesi di questa, occorre riassumere i breve in fatti rilevati, e già in parte esposti, sui cinque conigli colpiti:

a) la comparsa della paralisi fu tardiva: dal 31° giorno fino al 51°, cioè dopo l'inoculazione di siero immunizzante e cultura o di sola cultura;

b) la sintomatologia fu in tutti i conigli identica: paralisi di senso e moto del treno posteriore dapprima, accompagnata da paralisi della vescica e del retto, poi diffusione dell'acinesia agli arti anteriori, a cui succede uno stato di contrattura degli arti paralizzati nei conigli che più a lungo sopravvissero;

c) il reperto anatomico diede in tutti i conigli risultato negativo in riguardo a possibile morte per setticemia carbonchiosa o diplococcica. L'esame macroscopico del sistema nervoso centrale e periferico non faceva apprezzare alcuna alterazione grossolana;

d) non si ebbe mai sviluppo di germi nei mezzi nutritivi, in cui fu deposto materiale tratto dal sangue del cuore dei conigli morti o dalla sostanza nervosa cerebrale e midollare.

Evidentemente per i sintomi presentati la lesione deve risiedere nel midollo spinale ove esordì costantemente nelle porzioni inferiori.

Ora avendo trovato all'autopsia tutte le volte gli organi amicrobici, non possiamo ritenere che il processo mielitico sia stato diretto

(1) G. TIZZONI e L. PANICHI. *Vaccinazione, immunità e sieroterapia contro lo pneumococco di Fränkel. Ricerche sperimentali.* — Bologna, tip. Gamberini e Parmiggiani.

(2) TIZZONI e PANICHI. *Ricerche sopra una varietà neurotossica del pneumococco di Fränkel.* Gazz. ospit. e cliniche, 1901, n. 144.

mente dai germi per un'azione locale, ed il pensiero corre diritto all'ipotesi che esso sia di origine tossica.

Nella patologia umana, per quanto io sappia, non si ha conoscenza di lesioni nervose tardive o recenti dovute al carbonchio, indipendenti però da vere e proprie localizzazioni di quest'infezione. Ma appunto nell'uomo, ove il germe ha meno spiccata la tendenza ad invadere il sangue, non possiamo escludere, per l'esperienza clinica, la genesi tossica di alcuni fenomeni non altrimenti spiegabili: quali l'emolisi, gli edemi talora enormi e i gravi disturbi dello stato generale.

Sperimentalmente si è tentato più volte di mettere in rilievo i presunti veleni carbonchiosi che la clinica addita, indirizzando il processo patogenetico sopra una giusta via.

La preparazione delle tossine carbonchiose sembra molto difficile e delicata e lo studio di essa ha dato luogo a lavori numerosi con risultati discordi (Couradi, Hoffer, Sidney Martin, Lando Landi, Peterman, Hankin, Westbrook, Brieger e Fränkel).

La ragione di ciò, parve da taluno esistere nel fatto, che il veleno rimane per lunghissimo tempo incluso nella cellula batterica e da questa se ne allontana solo tardivamente o in certi mezzi preparati con speciali avvedimenti.

Ad ogni modo se non è più permesso per i lavori degli AA. citati sospettare fondatamente l'esistenza di prodotti tossici carbonchiosi, non è ancora sperimentalmente provata la produzione da parte dei bacilli del carbonchio di un veleno paralizzante, di cui solo ne fa menzione in un suo lavoro Marmier (1), in modo però da far sorgere fondati dubbi sulla serietà dell'osservazione fatta.

Ora se la Clinica, nella esatta interpretazione dei sintomi morbosi, non può disconoscere l'importanza patogena di veleni carbonchiosi e l'esperimento convalida col suo responso l'esistenza di essi, come possiamo valerci di questa conoscenza per rischiarare più intimamente il meccanismo di produzione dei fenomeni paralitici osservati nei conigli?

Innanzi tutto è bene mettere in rilievo che dei cinque conigli, quattro furono inoculati con siero e cultura in quantità straordinariamente esigua.

Per questi la possibilità dell'avvenimento, ad eccezione dello Scervo non mai osservato da alcun ricercatore infettando i conigli di carbonchio, è rischiarata da fatti di analogia e da conoscenze collaterali nel campo delle malattie infettive. Si sa infatti, in rapporto alla difterite, che nei primi tempi in cui si ricorse alla sieroterapia contro tale infezione si ottenne, e

(1) L. MARMIER. *Sur la toxine charbonneuse*. Annales de l'Institut Pasteur, 1895, pagina 533.

vero, una diminuzione della mortalità, ma si osservarono con maggior frequenza le paralisi post-difteriche, e ciò si volle mettere in relazione all'uso fatto da principio di sieri poco attivi.

Come pure è conosciuto il fatto che mentre le cavie non diventano mai paralitiche, quando sono infettate con culture di difterite o con filtrati tossici non troppo vecchi di esse, le paralisi appaiono con certa frequenza adoperando ad un tempo scarse dosi di siero antidifterico.

Tali conoscenze di analogia possono utilizzarsi per l'interpretazione dell'origine delle paralisi anticarbonchiose e dobbiamo ad Ehrlich una più esatta comprensione dell'avvenimento.

Questi nei filtrati di cultura in brodo di germi della difterite scopri, che insieme alle vere tossine, capaci di uccidere ad una data dose acutamente le cavie esistono diverse altre sostanze, le quali se dividono con le tossine la proprietà di legarsi coll'antitossico, o non sono patogene o spiegano un'azione tossica meno grave e tardiva.

Ad un gruppo di tali sostanze Ehrlich diede il nome di tossoni o di epitossoidi e la loro esistenza fu messa in evidenza da esperienze classiche. In queste Ehrlich dimostrò che quando s'inietta in una cavia una dose di siero antidifterico, incapace di neutralizzare tutti i veleni difterici esistenti, i primi ad essere annullati sono le tossine e da ciò la salvezza dell'animale; ma per la dose del siero scarsa rimangono inattaccati i tossoni o gli epitossoidi, sostanze meno energiche e meno tossiche a cui si debbono appunto le paralisi tardive. Che queste sostanze realmente esistono fu da Ehrlich provato luminosamente con esperimenti ulteriori oramai a tutti noti.

Ovvia è l'applicazione di queste conoscenze alle paralisi carbonchiose verificatesi nei conigli a cui fu iniettato il siero antidifterico; ma come spiegare il fatto delle paralisi insorte nel coniglio che ricevè solo nell'occhio germi carbonchiosi?

Io penso che in questo caso l'insorgenza dei fatti paralitici si possa spiegare facilmente, data la esiguità dei germi introdotti nella camera anteriore infiggendo nell'occhio, come fu praticato, il coltellino di Gräfe. Contro un così scarso numero di bacilli potè l'organismo del coniglio immunizzarsi attivamente valendosi dei propri poteri di difesa antibatterici ed antitossici, i quali ultimi però se realmente ci furono non riuscirono ad annullare i tossoni a cui appunto si dovè la paralisi tardiva che apparve al 31° giorno dopo l'inoculazione.

Per l'unica paralisi post-diplococcica osservata al 22° giorno nel coniglio, che ricevè cultura e siero Pano in scarsa quantità, il meccanismo patogenetico deve essere, a più forte ragione, quello invocato per le paralisi tossiche carbonchiose. Per i diplococchi dobbiamo ammettere anche un alto potere tossico, che la clinica ha da tempo riconosciuto e che l'indagine scien-

tifica è sulla strada di dimostrare pienamente, come ne fan fede i lodevoli tentativi di Lucatello (1), Mennes (2), Issaeff (3), Griffiths (4), Klemperec (4), Centanni (6), Carbone (7), Fox e Scabia (8), Sciolla e Trovati (9), Carnot e Fournier (10), e le brillanti ricerche dell'ultima ora di Tizzoni e Panichi (11).

\* \*

Volendo ora riassumere i fatti principali osservati, ecco quanto risulta :

1° Il germe del carbonchio spiega maggiore potere patogeno nei conigli normali, allorchè viene iniettato nella camera anteriore dell'occhio che non quando è introdotto sottocute.

2° I conigli immunizzati prima con siero e cultura e poi con cultura sola, sopportarono senza danno l'iniezione sottocutanea di una nuova dose di cultura, che riuscì letale per alcuni fra altri conigli, ugualmente trattati, ma infettati nella camera anteriore dell'occhio.

3° I due vaccini Pasteur riuscirono più virulenti, quando furono portati nella camera anteriore dell'occhio, anzichè sottocute.

4° Il siero anticarbonchioso protegge assai meglio dall'infezione carbonchiosa i conigli, quando il virus è iniettato sottocute che non quando si porta nella camera anteriore dell'occhio.

5° Ciò che è detto ai numeri 1 e 4 vale anche per il diplococco di Fraenkel e per il siero antipneumonico Pane.

6° Non si ebbe mai nella congiuntiva normale l'attecchimento del bacillo del carbonchio, nè del diplococco di Fraenkel, per quanto questi germi fossero usati in notevole quantità ed allo stato di grande virulenza.

7° Si ebbero paralisi tossiche tardive, non solo nei conigli trattati con siero e cultura di carbonchio sottocute; ma anche quando l'iniezione fu fatta nella camera anteriore dell'occhio.

(1) LUCATELLO. — *Sulla febbre pneumonica*. — Atti Accademia Medie, di Genova, 9 maggio 1897.

(2) MENNES. — *Das Antipneumokokken Serum und der Mechanismus der Immunität des Kaninchens gegen den Pneumococcus*. — *Zeitsch. f. Hygiene* 1897, Vol. 25, pag. 413.

(3) ISSAEFF. — *Immunité contre le pneumocoque*. — *Annal. Pasteur* n. 3, 1893.

(4) GRIFFITHS e LADELL. — *Sur une ptomaine extraite de l'urine dans la grippe*. — *Comptes rendus de l'Acad. des sciences*, 1893, Vol. 117°.

(5) GED. F. KLEMPERER. — *Versuche über Immunisirung, etc.* — Berlin, Klin. Woch. 1891.

(6) CENTANNI. — *La stomatite del pneumococco*. — *Rif. Med.* 1897.

(7) CARBONE. — *Sulla tossina del pneumococco*. — *Giorn. Acc. Med.* di Torino, 1898.

(8) FOÀ e SCABIA. — *Immunità e terapia della polmonite*. — *Gazz. Med.* di Torino, 1892, nn. 13, 14 e 16.

(9) SCIOLLA e TROVATI. — *Ricerche sperimentali sull'azione tossica del sangue nei pneumonici* — *Rif. Medica*, 1888, n. 238 — *Rivista Clinica*, 1889, n. 4.

(10) CARNOT e FOURNIER. — *Recherches sur le pneumocoque et ses toxines*. — *Archiv. de Med. exp.*, 1900.

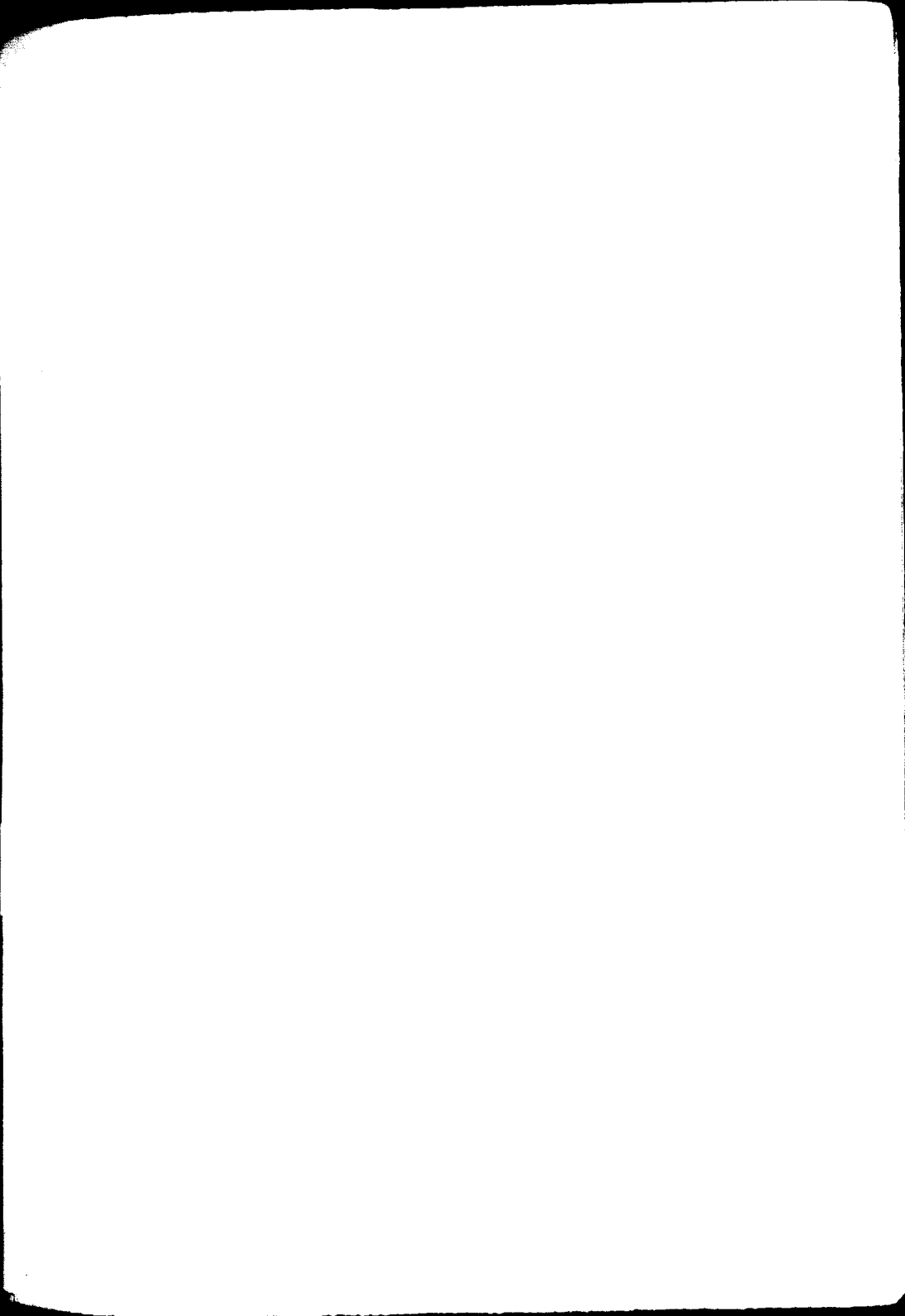
(11) TIZZONI e PANICHI. — *Loc. cit.*

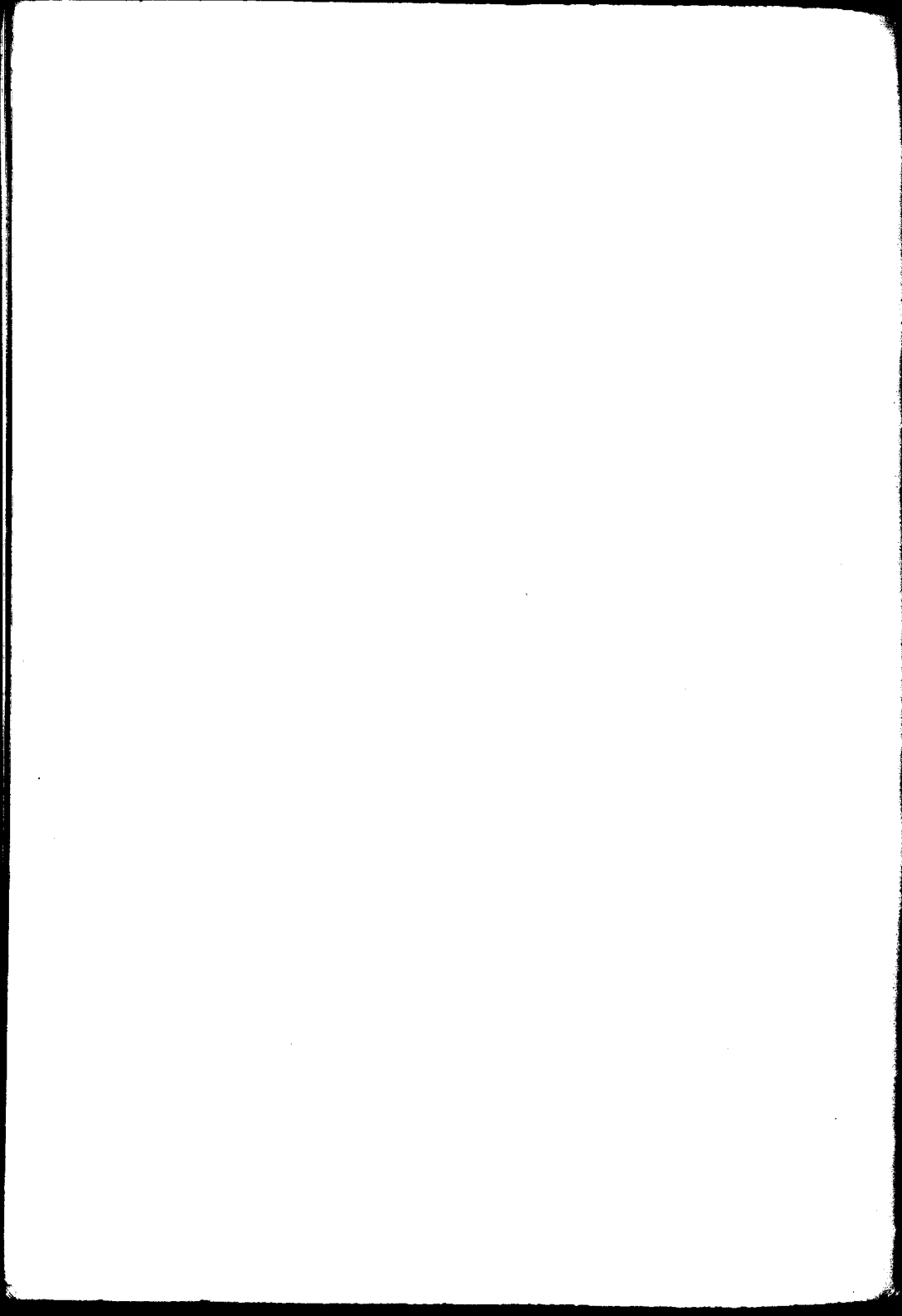
In un caso la paralisi ricorse in seguito all'iniezione di sola cultura di carbonchio.

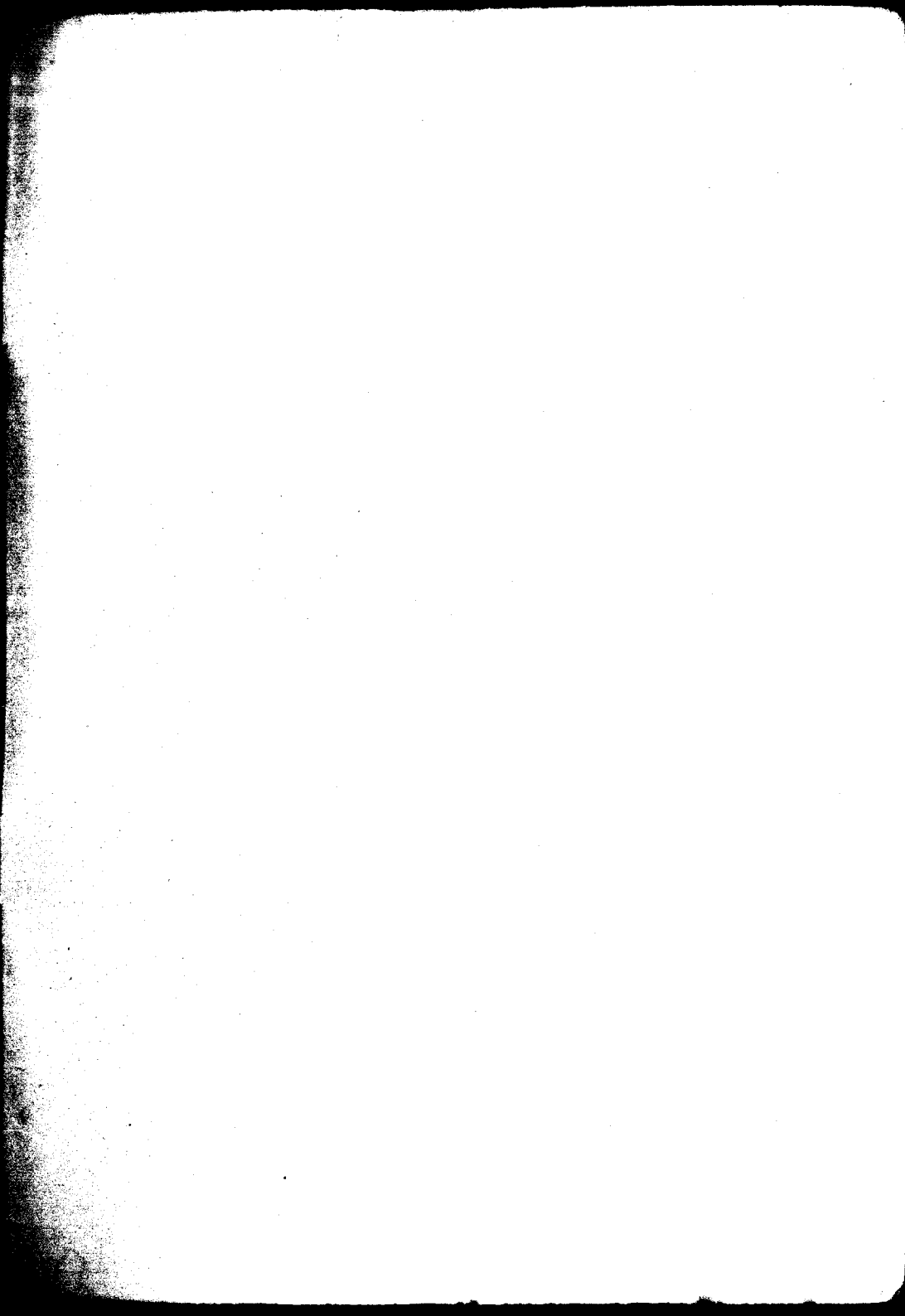
Anche il diplococco di Fraenkel iniettato nella camera anteriore dell'occhio, provocò la paralisi in un coniglio trattato col siero Pane.

\* \* \*

Queste mie esperienze furono eseguite nell'Istituto d'igiene dell'Università di Siena. M'è caro ringraziare anche qui il direttore prof. Selvo, il quale mi diede prova di cortese ospitalità, mettendo a mia disposizione il ricco materiale scientifico del suo Istituto.







# IL POLICLINICO

PERIODICO DI MEDICINA, CHIRURGIA E IGIENE

DIRETTO DAI PROFESSORI

**GUIDO BACCELLI FRANCESCO DURANTE**

DIRETTORE DELLA R. CLINICA MEDICA  
DI ROMA

DIRETTORE DEL R. ISTITUTO CHIRURGICO  
DI ROMA

Con la collaborazione di altri Clinici, Professori e Dottori, Italiani e stranieri

**IL POLICLINICO** nella sua parte originale pubblica i lavori dei più distinti clinici e critici delle scienze mediche, riccamente illustrati, sicché i lettori vi troveranno il riflesso di tutta l'attività italiana nel campo della medicina, della chirurgia e dell'igiene

**IL SUPPLEMENTO** tiene i lettori al corrente di tutto il movimento delle scienze mediche in Italia e all'estero. Pubblica perciò numerose e accurate riviste su ogni ramo delle scienze suddette, occupandosi soprattutto di ciò che riguarda l'applicazione pratica. Tali riviste sono fatte da valenti specialisti.

**IL SUPPLEMENTO** pubblica brevi ma sufficienti relazioni delle sedute di Accademie, Società e Congressi di medicina e di quanto si viene operando nei principali centri scientifici, avendo scelto all'uopo speciali corrispondenti.

**IL SUPPLEMENTO** non trascura di tenere informati i lettori delle scoperte ed applicazioni nuove, dei rimedi nuovi e nuovi metodi di cura, dei nuovi strumenti, ecc. ecc. Contiene anche un ricettario con le migliori e più recenti formule.

**IL SUPPLEMENTO** pubblica articoli e quadri statistici intorno alla mortalità e alle malattie contagiose nelle principali città d'Italia, e dà notizie esatte sulle condizioni e sull'andamento dei principali ospedali.

**IL SUPPLEMENTO** pubblica le disposizioni sanitarie emanate dalla Direzione Generale di Sanità, potendo esserne informato immediatamente.

**IL SUPPLEMENTO** pubblica in una parte speciale tutte le notizie che possono interessare il ceto medico: Promozioni, Nomine, Concorsi, Esami, Condotte vacanti, ecc.

**IL SUPPLEMENTO** tiene corrispondenza con tutti quegli abbonati che si rivolgeranno al *Policlinico* per questioni d'interesse scientifico, pratico e professionale.

A questo scopo dedica una rubrica speciale e fornisce tutte quelle informazioni e notizie che gli verranno richieste.

**IL POLICLINICO E IL SUPPLEMENTO** contengono ogni volta accurate recensioni bibliografiche, e un indice di bibliografia medica, col titolo dei libri editi recentemente in Italia e fuori, e delle monografie contenute nei Bollettini delle Accademie e nei più accreditati periodici italiani ed esteri.

A questo proposito si invitano gli autor a mandare copia delle opere e delle monografie da loro pubblicate.

**IL POLICLINICO E IL SUPPLEMENTO** dunque, per gli importanti lavori originali, per le copiose e svariate riviste, per le numerose rubriche d'interesse pratico e professionale, sono i giornali di medicina e chirurgia i più completi possibili e che meglio rispondono alle esigenze dei tempi moderni.

## ABBONAMENTI ANNUI:

	Italia	Unione postale
1. Alla sezione medica ed al Supplemento settimanale L.	15	20
2. Alla sezione chirurgica ed al Supplemento » »	15	20
3. Alle due sezioni ed al Supplemento » »	20	27
4. Al solo Supplemento » »	10	12.50

Un numero separato del *Policlinico* Lire UNA  
Un Numero del Supplemento Cent. 50.

Il *Policlinico* si pubblica due volte il mese in fascicoli illustrati di 48 pagine, che in fine di anno formeranno due volumi distinti, uno per la sezione medica e l'altro per la sezione chirurgica.

Il Supplemento si pubblica una volta la settimana in fascicolo di 48 pagine.