



ISTITUTO DI ANATOMIA PATOLOGICA DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA

53.22

STUDI SULLA ETIOLOGIA DELLA PULMONITE

DOTT. G. GUARNIERI

*Estratto dagli Atti della R. Accademia medica di Roma,
Anno XV, vol. IV, Serie II.*



ROMA
TIPOGRAFIA FRATELLI CENTENARI

STUDI SULLA ETIOLOGIA DELLA PULMONITE

—
DOTT. G. GUARNIERI
—

Durante il corso delle lezioni di Anatomia patologica si ebbe l'occasione molte volte di eseguire l'autopsia d'individui morti in seguito a polmonite fibrinosa. In molti di questi casi, specialmente in quelli con le più frequenti e più gravi complicanze che sogliono accompagnare questa malattia (pleurite, pericardite, meningite, endocardite, ecc.) ho eseguito alcune osservazioni di micologia patologica, i risultati delle quali voglio esporre in questa nota. Buona parte delle mie ricerche si riferiscono a controlli puri e semplici dei numerosi studi eseguiti su questo argomento, specie in quest'ultimo quinquennio, dei quali mi risparmio la esposizione, richiamando solo l'attenzione sovra alcune questioni, sulle quali mi sembra di aver portato qualche nuovo contributo. E prescindendo dal fatto che per alcune ricerche ho adoperato, pur venendo alle medesime conclusioni di altri autori, metodi più rigorosi e scientificamente esatti, m'importa più d'ogni altro di porre in rilievo alcune proprietà del microrganismo patogenetico della polmonite, che io ho potuto studiare più accuratamente in rapporto con le conoscenze cliniche e fisio-patologiche di questa malattia.

Tralascio, per amore di brevità, la descrizione dei singoli casi, che sono stati soggetto del presente studio, limitandomi ad enumerarli: e solo mi riserbo di parlare dettagliatamente d'alcuni, che per la loro importanza mi sembrano degni di menzione.

In primo luogo ho avuto agio di esaminare più di sessanta casi di polmonite, in alcuni dei quali ho potuto coltivare il pneumococco di Fränkel¹ dai nodi

¹ FRAENKEL, *Bakteriologische Mittheilungen*. Zeitschrift für klinische Medicin. Bd. X, p. 401.

WEICHELBAUM, *Medicinische Jahrbücher*, 1886, Heft 8.

di polmonite, ma da molti altri l'ho ottenuto costantemente con la iniezione in conigli di poca acqua distillata mescolata a sputi rugginosi di recente infezione pneumonica. Non sono mai riuscito ad isolare da nessuno dei casi esaminati, anche in forme cliniche rapidissime e letali, il pneumobacillo di Friedländer.¹ Dacchè fu pubblicata la sua memoria nel *Fortschritte der Medicin*, cinque anni or sono, invano ho ricercato il pneumobacillo in moltissimi casi via via che ci sono capitati sul tavolo anatomico: cosicchè mi sono persuaso che qui in Roma le epidemie di polmonite, per le quali ogni anno si empiono i nostri ospitali, hanno sempre per agente causale il pneumococco di Fränkel.

Ho potuto poi esaminare 15 casi di meningite cerebro-spinale, dei quali, 8 concomitanti a polmoniti, 2 con leggiera pleuriti e 5 senza altra manifestazione che le lesioni delle meningi cerebro-spinali. In due soli di questi ultimi cinque casi occorsi qualche tempo prima che il Weichselbaum² pubblicasse il suo lavoro, non sono riuscito a produrre nei conigli, con la iniezione dell'essudato della meninge, la caratteristica setticoemia, mentre in tutti gli altri tredici casi ho ottenuto, sempre con molta facilità, culture caratteristiche di pneumococchi ed il noto quadro sperimentale negli animali, d'accordo perfettamente con quanto hanno stabilito quasi contemporaneamente nel marzo dell'86, Foà e Bordoni-Uffreduzzi³ a Torino e Fränkel⁴ a Berlino. E non solo in questi due casi non ebbi alcuna malattia apprezzabile negli animali d'esperimento, ma eziandio riuscì vana ogni prova di coltivazione e nella gelatina e nell'agar e nel siero di sangue, tanto alla temperatura della camera, quanto nel termostato. Cionondimeno nelle lastrine sulle quali aveva disseccato un leggiero strato di essudato, si rinvennero in ambedue i casi dei microrganismi irregolarmente rotondeggianti di grandezza variabile, riuniti il più delle volte a due con una linea di depressione nel punto di contatto ed aggruppati in zooglee dentro il protoplasma di cellule dell'essudato. Questo microrganismo, la cui morfologia è molto rassomigliabile a quella del *merismopodia gonorrhoeae* e nello stesso tempo molto diversa

¹ FRIEDLAENDER, *Die Micrococcen der Pneumonie*, *Fortschritte der Medicin*. Bd. I 1883, n. 22.

² WEICHELBAUM, *Ueber Aetiologie der acuten Meningitis cerebrospinalis*, *Fortschritte der Medicin*. Bd. V, N. 19, 1887.

³ FOÀ e BORDONI-UFFREDUZZI, *Bollettino dell'Accademia medica di Torino*. Seduta del 19 marzo 1886.

⁴ WEICHELBAUM, *Deut. med. Wochenschr.*, 1 aprile 1886.

da quella del pneumococco, col quale non può confondersi in nessun modo, fu rinvenuto per primo da Marchiafava e Celli in casi di meningite cerebro-spinale epidemica (come tale clinicamente riconosciuta) e descritti col nome di microrganismi *gonococchiiformi*.

Recentemente anche il Weichselbaum ha studiato, in casi di meningite cerebro-spinale, un microrganismo diverso dal pneumococco, coltivandolo nei comuni terreni di nutrizione e sperimentandone il potere patogeno nei conigli. Sebbene le note morfologiche del microrganismo intracellulare del Weichselbaum sieno molto simili a quelle dei microrganismi dei nostri casi, pur non di meno e per le prove negative d'innesto di questi ultimi nei conigli e per quelle pur negative di cultura, a quanto sembra proprio nelle medesime condizioni del nominato autore, non parrebbe si avesse a che fare con uno schizomiceto identico. Comunque sia, è indubitato però che contrariamente all'opinione di Foà e Bordoni-Uffreduzzi, esistono delle meningiti cerebro-spinali epidemiche che hanno una etiologia diversa da quella delle comuni polmoniti erupali.

Altri quattro casi di meningite cerebro-spinale sono stati soggetto di esame, nei quali le lesioni delle meningi erano accompagnate non solo dalla infiammazione polmonare, ma in due casi da vastissimo flemmone delle regioni surali destre ed in altri due da endocardite vegetante-ulcerosa.

Nel primo caso si tratta di un individuo con polmonite del lobo inferiore di sinistra e leggera raccolta di liquido nella cavità pleurica dello stesso lato. Lo stato generale dell'individuo accenna ad una gravezza non giustificata dalle lesioni locali. Al secondo giorno di degenza nell'ospedale si manifesta alla regione poplitea un turgore doloroso che nel giorno successivo si estende alla regione surale ed alla parte anteriore del ginocchio e della gamba a destra. Al sesto giorno si è già formato un vasto flemmone nella regione dei gemelli dallo stesso lato. E intanto l'ammalato con temperature altissime aggrava e muore nel coma.

AUTOPSIA. - Nutrizione generale ottima. Turgore dell'arto inferiore destro dal ginocchio fino al terzo inferiore della gamba. Vasto flemmone della regione dei gemelli. Il pus di nessun odore, di colorito grigiastro, denso, filante, commisto a sangue. Nell'articolazione del ginocchio si nota un'infiltrazione dei tessuti periarticolari ed alla sezione una viva iperemia delle capsule articolari e leggera raccolta purulenta nella cavità.

CRANIO. - Meningite a chiazze della volta. Le masse di essudato fibrino-purulento occupano più particolarmente e quasi simmetricamente il piede delle due prime circonvoluzioni frontali ed i lobi parietali. - A sinistra la porzione inferiore delle circonvoluzioni rolandiche. Nulla nella base. Sostanza cerebrale vivamente punteggiata.

PERITO. - Leggera pleurite fibrinosa sinistra. Polmonite cruposa della base e del lobo

superiore. Polmone destro congestionato. Piccolo ascesso polmonare. Piccoli focolai di miocardite in corrispondenza della inserzione della valvola aortica posteriore.

ADDOME. - Tumore di milza. Nulla di notevole nei reni e nel fegato.

DIAGNOSI ANATOMICA. - Polmonite - Pleurite - Meningite embolica - Flemmone della regione surale destra.

ESAME MICROSCOPICO E BATTERIOLOGICO. - Nei preparati convenientemente colorati dell'essudato meningeo, come anche del pus del flemmone, non che in quelli fatti con il contenuto del piccolo ascessolino polmonare, si rinvennero numerosissimi diplococchi provvisti di capsula. Tanto dalle meningi quanto dal pus del flemmone preso in più punti, come anche dall'ascessolino polmonare si ottennero pure culture di pneumococco e nessun altro microrganismo, mentre i terreni adoperati sarebbero stati adattissimi allo sviluppo di altri schizomiceti; così, per esempio, quelli della suppurazione. Furono fatte per controllo tre iniezioni in tre conigli, due dei quali morirono in breve con la caratteristica setticoemia - e furono quelli con iniezione molto abbondante. Dal sangue del cuore si riottennero pure culture di pneumococchi.

Nel secondo caso si tratta di un individuo di circa 57 anni, il quale fu sorpreso dalla pioggia lontano dalla sua abitazione mentre era estuante. Appena ritornato fu colto da un fortissimo dolore al ginocchio destro e da febbre con brividi prolungati e ripetuti.

Accolto nell'ospedale di S. Spirito in una delle sale mediche, ebbe per tre giorni di nuovo forti brividi e temperatura altissima; e nel ginocchio al dolore continuato si aggiunse eziandio gonfiore dell'articolazione ed edema della regione poplitea.

Fu trasportato per conseguenza alla sala chirurgica, dove si riconobbe affetto anche da pleuro polmonite; e l'infermo, aggravandosi rapidamente, cessò di vivere dopo sei giorni di degenza nell'ospedale.

AUTOPSIA. - Alla regione poplitea ed alla regione surale destra si nota gonfiore ed edema della cute, al disotto della quale vi è una considerevole raccolta marciosa, la quale s'insinua anche fra il fascio nerveo vascolare ed i muscoli. Lieve raccolta purulenta anche dentro la cavità articolare del ginocchio.

Nulla a carico delle meningi nè del cervello.

PETTO. - Pleuro-polmonite del lobo superiore di sinistra. - Pericardite sierofibrinosa-emorragica. - Cuore flaccido. Nulla di notevole a carico degli apparecchi valvolari.

ADDOME. - Fegato ricco di sangue. - Milza aumentata di volume, molle. - Reni iperenici. - Nulla a carico del peritoneo, dello stomaco, nè dell'intestino.

DIAGNOSI ANATOMICA. - Pleuro-polmonite del lobo superiore di sinistra. - Artrite concomitante al ginocchio destro. - Flemmone sotto-cutaneo ed intermuscolare della regione surale corrispondente.

ESAME ISTOLOGICO E BATTERIOLOGICO. - Nei preparati del pus disseccato in sottile strato su lastrine coprioggetti, dopo adatta colorazione, si notano numerosissimi diplo-

cocchi capsulati, in alcuni punti più numerosi dei nuclei delle cellule purulente. Si eseguirono culture in gelatina e gelosio dall'essudato della pericardite, della pleurite, della polmonite e del pus dell'ascesso. Si ottennero direttamente purissime culture di pneumococco dalle gelatine con innesto dell'essudato pulmonitico, ed in quattro tubetti di saggio con innesto del pus dell'ascessourale. Negli altri malauguratamente si sono introdotti microrganismi della putrefazione, mentre però con l'esame microscopico in mezzo a numerosi bacilli si rinvengono parecchi diplococchi.

Le prove d'innesto in un coniglio riuscirono positive e l'animale morì in preda alla caratteristica setticoemia per abbondante inocolazione di culture provenienti dall'ascesso. Con le culture dell'essudato pulmonare i conigli non ebbero a sopportare malattia apprezzabile.

I risultati di questi esami, eseguiti con la più scrupolosa esattezza, dimostrano evidentemente come il pneumococco, fra le altre numerose proprietà, possa in date circostanze acquistarne alcune potentemente piogene. Ed in questa convinzione eziandio mi ha spinto l'esame di alcuni dei casi soprannumerati di meningite cerebro-spinale, specialmente alcuni senza altra lesione che quella delle meningi, nei quali l'essudato, pur non esistendo in esso che pneumococchi, era composto di un vero e proprio pus fluente, e non di sostanza fibrino-puriforme, come il più delle volte accade. Questa proprietà piogenica del pneumococco non è stata, che io mi sappia, dimostrata ancora da alcuno in un modo così evidente come io ho potuto fare con questo caso di vastissima suppurazione sottocutanea ed intermuscolare concomitante ad infezione pneumonica.

Non sono riuscito, malauguratamente, dopo questi fatti, ad esaminare dal punto di vista batteriologico casi di esito in suppurazione della polmonite: ma non mi sembra improbabile che tale esito possa aver luogo alcune volte per dato e fatto solamente di questo stesso microrganismo causa della polmonite crupale in primo tempo, che più tardi acquista proprietà piogene, per predisposizione forse dell'individuo sul quale esso vive da parassita (per la qual cosa abbiamo il conforto della statistica clinica ed anatomo-patologica) senza aver punto il bisogno di ricorrere sempre, per la interpretazione etiologica del summentovato esito, alla idea di una infezione secondaria dovuta alla nuova invasione di uno dei noti microrganismi piogeni (Foà e Rattone, Jacoud, Weichselbaum). E questa ipotesi è resa tanto più probabile dal fatto del non aver ritrovato anche nell'ascesso pulmonare del caso in parola altro microrganismo che il pneumococco, come anche per alcuni reperti sperimentali in conigli, dei quali parlerò in seguito.

Anche degli altri due casi di meningite concomitante, endocardite vege-

lante ulcerosa, mi sembra opportuno per la loro importanza darne alcuni cenni clinici ed anatomo-patologici.

Primo caso. — NOTIZIE CLINICHE. - Il 10 febbraio 87 fu accolto nella R. Clinica Medica un mugnaio di 36 anni che fino dal primo del mese sopportava una polmonite destra. L'area cardiaca era aumentata, l'urto della punta del cuore al quinto spazio intercostale. Il secondo tono sostituito da un rumore di soffio dolce e prolungato, più intenso verso la base del cuore. Morì dopo sette giorni di degenza in clinica.

AUTOPSIA. - CRANIO. - Essudato puriforme in corrispondenza della corteccia cerebellare e del bulbo.

PETTO. - Leggera raccolta liquida nelle cavità toraciche. Aderenze pleuriche multiple. Periepatite; leggera idrope ascite. Area cardiaca perfettamente scoperta. Nella cavità del pericardio un essudato sierofibrinoso sanguinolento. Nel cuore la valvola aortica anteriore e la sinistra presentano una retrazione ed un ispessimento, la prima nella metà destra, la seconda nella metà posteriore. La valvola destra si presenta pur essa retratta, ispessita ed ulcerata in tre punti, con perforazioni. I bordi di questa ulcerazione sono rigonfi e ricoperti da masse trombotiche. L'endocardio dell'infundibolo ulcerato in più punti e ricoperto pur esso da masse trombotiche. Il miocardio circostante rammollito, il resto dell'endocardio normale. Induramento bruno del polmone sinistro. Nel polmone destro il lobo superiore resiste al taglio e non crepita. La superficie di taglio è levigata, splendente, di color grigiastro roseo sparso di punti miliarici grigio splendenti o giallo opachi. Infarti emorragici nel lobo inferiore.

ADDOME. - Leggera atrofia cianotica del fegato. Reni iperemici senza embolismi.

DIAGNOSI ANATOMICA. - a) Insufficienza aortica e dilatazione di tutto il cuore.

b) Polmonite superiore destra avviatesi all'esito in induramento. Grosso infarto emorragico nel lobo inferiore.

c) Endocardite ricorrente ulcerosa dell'orificio aortico. Pericardite sierofibrinosa emorragica.

d) Meningite embolica.

ESAME MICROSCOPICO E BATTERIOLOGICO. - Nei preparati con sangue del cuore rapidamente disseccati alla lampada si rinvengono diplococchi circondati da una capsula. Sono in numero considerevole nel sangue, ma si rinvengono anche numerosi nel tessuto della valvola aortica ulcerata, nella quale sono accumulati negli interstizi del connettivo in piccoli gruppetti o disposti in catenule di due o tre coppie. Sui bordi della valvola si rinvengono in ammassi cospicui limitati da una zona d'infiltrazione cellulare, mentre in alcuni punti il tessuto della valvola si rinviene necrotico. Per ripetuti esami eseguiti col metodo di Graam e di Loeffler nei pezzi di polmoni con indurimento non si sono mai rinvenuti microrganismi.

Dalle masse trombotiche aperte con tutte le precauzioni, dal sangue del cuore e dall'essudato purulento delle meningi si eseguirono culture in gelatina nutritiva, in gelatina e gelosio ed in agar-agar. Di queste culture rimasero sterili solo quelle tenute alla temperatura della camera, mentre in quelle conservate nel termostato si ebbe lo sviluppo di un microrganismo con tutti i caratteri del pneumococco di A. Frän-

kel. I conigli inoculati per controllo morirono tutti col noto reperto necroscopico della setticoemia.

Secondo caso. — NOTIZIE CLINICHE. - Uomo giovane e robusto che antecedentemente aveva sofferto di reumatismo articolare acuto, affetto di pleuro-polmonite destra.

Nulla degno di nota nei primi giorni della malattia. Dopo 5 o 6 giorni, senza che i fenomeni del petto aggravassero, la febbre s'innalza l'infermo cade nel coma e muore dopo quattro giorni.

AUTOPSIA. — **CRANIO.** - Iperemia meningea e corticale. Chiazze di meningite sparse irregolarmente nei lobi frontali, parietali, sfenoidali, maggiori a destra.

Nei ventricoli liquido opaco fioccoso. Chiazze di meningite spinale. Null'altro degno di nota per gli organi nervosi centrali.

TORACE. - Pleuropolmonite a destra. Epatizzazione grigia alla base. Epatizzazione rossa nel lobo superiore. Congestione ed edema del polmone sinistro. Cuore ingrandito. Emorragie puntiformi recenti del pericardio. Ipertrofia del ventricolo sinistro. Miocardio flaccido. Insufficienza della mitrale. Erosione dei bordi valvolari. Endocardite vegetante recentissima. Le vegetazioni si impiantano in amendue i pozzi valvolari. Normali gli altri apparecchi valvolari.

ADDOME. - Fegato con leggera atrofia cianotica. Rene con induramento cardiaco. Tumore acuto di milza. Polpa mollissima. Nulla a carico della vescica.

DIAGNOSI ANATOMICA. - **Pulmonite.** - **Meningite embolica.** **Endocardite vegetante ulcerosa.**

ESAME MICROSCOPICO E BATTERIOLOGICO. - Nell'essudato meningeo, nel sangue, nelle vegetazioni schiacciate su vetrini coprogetti non si rinvennero altro che diplococchi provvisti, ove si adoperino adatte colorazioni, di una elegante capsula; così anche dentro il tessuto delle vegetazioni dell'endocardio dove, appunto in talune zone, sono accumulati in numero enorme. Dalle culture della meningea, del sangue e da quelle delle vegetazioni, fra le molte fatte se ne ottengono alcune pure di *pneumococco*, ma alcune altre guaste dai soliti germi della putrefazione. Le iniezioni sottocutanee in due conigli furono seguite da setticoemia, e dettero anche una prova della sovraannominata natura di questo microrganismo.

Queste osservazioni dimostrano con rigore indiscutibile, come l'endocardite ulcerosa concomitante o susseguente a pulmonite abbia a volte la medesima etiologia di quest'ultima, la qual cosa il prof. Marchiafava pensa già da tempo. Egli espresse la probabilità di questo fatto in un suo lavoro¹ sull'endocardite micotica, or sono parecchi anni, inducendolo dalla sola osservazione istologica e dalle proprietà morfologiche dei microrganismi che egli fu uno dei primi a rinvenire in cosiffatti processi, non potendo, per le risorse della tecnica batteriologica di quei tempi, darne una dimostrazione rigorosa.

¹ MARCHIAFAVA E., *Endocardite micotica*. Atti del Congresso medico di Genova, 1880.

Più recentemente poi il Netter¹ si è occupato estesamente della questione, avendo avuto l'agio di eseguire ricerche in proposito su diversi casi, e venendo alle medesime conclusioni di Marchiafava, Bozzolo, Klebs, Colomiatti, Cornil et Babes, i quali tennero solo conto dei caratteri morfologici, mentre egli poté darne delle prove sperimentali. Difatti con la iniezione del sangue del cuore e dei detriti delle ulcere nelle pleure dei conigli ottenne il quadro sperimentale della pulmonite (Fraenkel, Weichselbaum). Le esperienze del Netter, benchè giuste nelle conclusioni ed eseguite con molta accuratezza, mancano però di quella precisione scientifica propria dell'attuale periodo della fisiopatologia sperimentale, specie per ciò che riguarda l'etiologia delle malattie. Egli nelle sue esperienze ha trascurato, anzi si può dire ha tralasciato affatto l'esame dei microrganismi dei suoi casi, coltivati in terreni artificiali ed al di fuori dell'organismo. Mentre è ovvio che nello stato attuale della scienza un fatto, come quello da lui sostenuto, non si può affermare con sicurezza se non dopo aver esauriti tutti i mezzi di ricerca che i progressi della batterologia ci offrono, non fermandosi solo all'esame microscopico che, come si sa, il più delle volte è insufficiente per distinguere gli uni dagli altri microrganismi che hanno fra di loro differenze morfologiche spesso inapprezzabili.

Ma, più recentemente ancora del Netter, il Weichselbaum² ha studiato due casi di meningite cerebro spinale e pulmonite accompagnati da endocardite ulcerosa, nei quali non solo ha ritrovato microscopicamente sugli interstizi linfatici del tessuto valvolare il diplococco della pulmonite, ma eziandio ne ha ottenute delle pure culture.

In tutte queste osservazioni appare evidente che tale microrganismo, o dalle lesioni polmonari, o più raramente da quelle della meninge, penetra nel sangue, ed ove trovi le condizioni opportune e la predisposizione per alterazioni pregresse degli apparecchi valvolari cardiaci, può quivi annidarsi e dar luogo a processi ulcerativi. Per questi fatti si affaccia alla mente una naturale riflessione, in quale grave pericolo incorra colui il quale sia colto da pulmonite, con la più benigna forma quando abbia sofferto in antecedenza attacchi di endocardite ricorrente anche lieve; dappoichè è fuori di dubbio

¹ NETTER, *De l'endocardite végétante-ulcéreuse d'origine pneumonique*. Archives de Physiologie normale et pathologique, n. 84.

² WEICHSELBAUM, *Centr. für Bacter. und Parasit.*, Bd. II, n. 8, 7 giugno 1887.

Il primo caso da me ora descritto fu comunicato alla R. Accademia medica di Roma nella seduta ordinaria dello stesso mese (5 giugno 1887).

che nel sangue dei pulmonitici si può avere la presenza del pneumococco anche in quei casi a decorso clinicamente mite senz'altra complicità e con esito favorevole di guarigione completa.

Sotto questo punto di vista, io, nell'anno scorso, ho esaminati molti casi di pulmonite mettendo in cultura una goccia di sangue tolta dal dito con gli usuali metodi di premonizione contro i microrganismi accidentali della cute, ma le mie ricerche riuscirono completamente negative. Più tardi però ho avuto l'agio di fare le stesse ricerche in due pulmonitici, pei quali dal medico curante erano stati ordinati dei salassi. In questa occasione disponendo di considerevoli quantità di sangue (otto o dieci gocce ogni tubo di saggio) ebbi sempre delle purissime culture di pneumococco. Ambedue le volte si trattava d'individui robusti e giovani, e la pulmonite ebbe un decorso regolare, la febbre cadde in settimana giornata in uno, e in dodicesima nell'altro, entrambi lasciarono l'ospitale perfettamente guariti. Dopo queste osservazioni sono portato alla convinzione che tutti i reperti negativi avuti prima si debbono indubbiamente ad imperfezioni di metodo. E che solo si debba tener conto delle due ultime osservazioni, viene anche suggerito dal fatto messo in evidenza nel nostro laboratorio per ciò che riguarda l'infezione puerperale,⁴ nella quale lo streptococco piogene si rinviene nel sangue circolante e durante la vita solo allorquando si facciano le ricerche sopra considerevoli quantità di sangue estratto direttamente dalla vena con una siringa sterilizzata, e mai quando si pongano in cultura gocce di sangue estratto dal dito con i comuni metodi.

Ma altre volte invece il processo della pulmonite deve considerarsi tutt'affatto secondario ed è preceduto da infezione generale o da un processo di endocardite vegetante. Questo fatto, da tanto tempo osservato dai clinici, mancava di esami accurati che facessero conoscere quali rapporti etiologici per avventura esistessero fra le diverse lesioni anatomiche. Sovra il seguente caso occorso nella clientela privata del mio valente amico il dott. G. Galassi ho potuto sotto questo punto di vista eseguire alcune ricerche micologiche.

NOTIZIE CLINICHE. - N. N. di anni 57 ebbe generalmente buona salute. Circa dieci anni fa contrasse una infezione sifilitica, la quale dette poi luogo ad una iridocoroidite specifica. Nel principio dell'anno 1887 fu esaminata per disturbi vaghi (accessi disnoici, palpitazioni, dolori epatici), e si rinvenne un soffio sistolico alla punta del cuore,

⁴ In un lavoro sulla infezione puerperale in corso di stampa del dott. Marino sarà discussa dettagliatamente questa questione.

e nell'istesso tempo l'inferma alla sera avvertiva qualche volta edemi degli arti inferiori. Nella primavera la sua salute migliorò di molto.

Nell'agosto dell'87 ebbe a soffrire di febbri intermittenti che cedevano alla china ed erano accompagnate da affezioni reumatiche in varie parti del corpo. Queste febbri si ripetettero più volte e nell'ottobre e nel novembre.

Nei primi giorni del febbraio 1888 è presa da forte dolore al ginocchio sinistro, il quale contemporaneamente si tumefecce. Ebbe febbre preceduta da brivido prolungato, il quale si ripetette successivamente per ogni attacco articolare, giacchè in breve vennero prese le articolazioni del carpo e del gomito sinistro. Dopo generosa somministrazione di salicilato di soda le artriti si sciolsero rapidamente. Verso la metà di febbraio, dopo alcuni giorni dai primi attacchi, furono colte con la stessa forma le articolazioni del braccio destro, e quelle della mandibola e del ginocchio destro.

Dopo due o tre giorni, in seguito a somministrazione di salicilato di soda, i fenomeni articolari scomparvero. Gli accessi febbrili però si ripetettero e verso il 18 febbraio incominciarono a presentarsi due volte nelle ventiquattr'ore nella forma seguente:

Ore 10 antimeridiane $9\frac{1}{2}$ - $10\frac{1}{2}$ forte brivido che si prolunga talora fino a mezzogiorno - temperatura $40^{\circ} : \frac{2}{10}$ - $40^{\circ} : \frac{8}{10}$.

Ore 3 pomeridiane circa profuso sudore, temperatura $37^{\circ} : \frac{5}{10}$.

Ore 5 pomeridiane brivido intensissimo, temperatura $40^{\circ} : \frac{2}{10}$ - $40^{\circ} : \frac{2}{10}$.

Durante la notte profuso sudore ed abbassamento della temperatura più graduale dell'attacco mattinale, fino a cessare completamente verso le 6-7 antimeridiane.

Durante la febbre soffriva di lieve tosse, agitazione: negli intervalli godeva benessere completo.

Seguì sempre il soffio sistolico alla punta cardiaca, e la milza era grande, debor-dava quattro dita trasverse circa.

Per tre giorni si somministrò chinino. Si ripetettero gli accessi febbrili lo stesso, però con elevazioni di temperatura meno alte e la defervescenza meno netta.

In questo frattempo si eseguirono esami microscopici del sangue per vedere se per avventura si trovassero le alterazioni caratteristiche dei globuli rossi nella malaria. Le ricerche riuscirono completamente negative. Al quarto giorno, sospesa la somministrazione del chinino, gli attacchi febbrili tornarono alle elevazioni ben forti sovrannate e la febbre divenne nettamente intermittente.

Il 6 marzo, mentre lo stato generale sembrava lievemente migliorato, fu colta da brivido insolitamente intenso, con tosse e agitazione. La temperatura elevata si mantenne tale anche nei giorni successivi. Suono timpanico alto nella fossa sottoclaveare destra; ottusità nel cavo ascellare; ibid. soffio bronchiale secco; escreato denso ruginoso; diarrea. L'undici marzo muore nel coma.

AUTOPSIA. - Per cause indipendenti dalla mia volontà si poté aprire solo la cavità del petto. Il cuore dilatato flaccido; la mitrale con i bordi erosi, in amendue vegetazioni cospicue con piccoli trombi fibrinosi aderenti. Nulla a carico dell'orificio aortico. Epatizzazione del lobo pulmonare superiore destro.

ESAME MICROSCOPICO E BATTERIOLOGICO. - Rimossi con tutte le cautele i trombi fibrinosi ed aperte le vegetazioni con coltello sterilizzato; con materiale preso dal fondo del taglio, si fanno culture in 8 tubetti di saggio. In tutti segui sviluppo di microrga-

nismi, ma solo in due terreni si ebbero culture pure di diplococchi, che per le proprietà morfologiche e biologiche si riconobbero per quelli di Fränkel. Difatti sperimentato anche con le iniezioni in due conigli questi morirono con il noto quadro della setticemia dopo 3 e 4 giorni. All' esame microscopico delle sezioni indurite in alcool si ritrovano nel trombo esterno dei diplococchi con grossi bacilli, come quelli che guastarono la maggior parte delle culture, con evidente odore di putrefazione. Ma nella spessezza delle vegetazioni si rinvennero solo dei gruppi più o meno cospicui di pneumococchi, i quali nei preparati in lastrine coprogetti, dopo colorazione adatta, appaiono provvisti di una evidente capsula.

Nota solo di sfuggita l'importanza clinica di questo caso che va aggiunto a completare il quadro presentato già da tempo da Leyden¹ della febbre intermittente nella endocardite. Solo richiamo l'attenzione sull' interesse veramente pratico che ha l'applicazione dell'esame microscopico del sangue per la diagnosi differenziale, quando non si possa escludere in altro modo la infezione malarica, come hanno dimostrato in una recente pubblicazione Marchiafava e Celli² per un caso molto simile a questo.

Ma quello che più m' importa di porre in rilievo si è che il fatto acquista una speciale importanza per il risultato delle ricerche batteriologiche, le quali rafforzano le probabilità di alcuni concetti già avanzati nella scienza da altri autori. Difatti il Foà ed il Bordoni-Uffreduzzi³ dopo l'esame di un caso di sierosite multipla, nel quale rinvennero nient'altro che il meningococco, ritennero verosimile, che debbansi raccogliere sotto la stessa categoria tutte quelle affezioni « che un tempo costituivano le malattie reumatiche per eccellenza, non escluso, forse, il cosiddetto reumatismo articolare acuto. » Dopo la storia clinica e dopo il reperto anatomico-micologico sovraesposto non cade dubbio che tali ipotesi acquistino la grandissima probabilità di una naturale induzione. Talchè la poliartrite e l'endocardite che sovente l'accompagnano - associazione da lungo tempo segnalata ed universalmente ammessa dai clinici e passata al patrimonio delle conoscenze più elementari fisiopatologiche - andrebbero così riunite sotto il medesimo punto di vista etiologico con la infezione pulmonitica.

¹ LEYDEN, *Ueber intermittirendes Fieber und Endocarditis*. Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. 4, n. 3.

² MARCHIAFAVA e CELLI, *Sull' infezione malarica*. Atti della R. Accademia medica di Roma, 1886-87.

³ L. c.

Con questo ricco materiale ho potuto avere una non interrotta serie di culture per circa due anni, sulle quali ho eseguito alcuni studi per meglio chiarire la biologia e la morfologia di questo diffusissimo microrganismo, il pneumococco di Fränkel (rispettivamente meningococco di Foà e Bordoni-Uffreduzzi, bacillo salivario settico di Pasteur, Sternberg, Biondi).

Prima di tutto ho cercato di migliorare le condizioni d'esperienza procurando di diminuire le difficoltà della tecnica. E di fatti mi sono proposto di rinvenire, provando una quantità svariata di terreni di cultura, un mezzo nutritivo con proprietà fisiche e chimiche più adatte alla vita di esso che non fossero i mezzi dai vari autori finora proposti. Prescindendo dai mezzi liquidi, i quali, sebbene permettano lo sviluppo rapido dei microrganismi in parola, hanno però lo svantaggio di non lasciar vedere la forma ed il graduale accrescersi delle colonie, i terreni solidi anche quelli molto ricchi in gelatina da potersi tenere a 22° c. (proposti dal Fränkel) lo lasciano sviluppare molto lentamente, mentre d'altra parte era di grandissima utilità e sommamente comodo il poter ottenere in terreni trasparenti, nel maggior rigoglio vitale possibile, lo sviluppo d'un microrganismo, che allo stato di parassita dentro gli animali determina malattie così acute, moltiplicandosi in numero straordinario e rapidissimamente.

Il mezzo nutritivo che mi ha servito all'uopo in modo meraviglioso è della composizione seguente: Infuso di carne 950 grammi - sal di cucina 5 grammi - Peptone secco 25 a 30 grammi - Gelatina francese marca d'oro 40 a 60 grammi - Gelsio grammi 3 a 4 fatto bollire separatamente in 50 grammi di acqua. Si neutralizza il più perfettamente possibile, senza cercare, come di comune, una decisa reazione alcalina. Si filtra e si sterilizza in tubi di saggio. Si ottiene così un terreno di cultura che si può mettere alla temperatura di 35° 37°, senza che si liquefaccia completamente mantenendo una semi-solidità. A tale temperatura in cosiffatti mezzi di coltivazione il pneumococco si sviluppa in forma stalattitica lungo la traccia lasciata dall'ago, e così rapidamente, che in 15 ore la colonia può raggiungere uno spessore, ove l'infissione sia fatta con una spatolina di media grandezza, di un gambo dei comuni fiammiferi di legno. In questo mezzo di coltivazione il pneumococco vive rigogliosamente anche passando dallo stato di parassita a quello di saprofita, qualunque ne sia la provenienza (endocardite - flemmone - polmonite - pleurite - meningite - setticoemia sperimentale). La forma delle colonie nelle culture cosiffatte si assomiglia a quella dello streptococco della erezipela rispettivamente streptococco piogene (febbre puerperale), ma se ne distingue per l'aspetto più opaco e compatto delle colonie di quest'ultimi,

che hanno anche una tinta bianca, mentre il pneumococco, che ha sempre un colorito grigio biancastro ed invade in seguito dopo 5 o 6 giorni quasi per un terzo il materiale nutritivo come una massa nebbiosa e polverulenta.

Molte volte ne ho ottenute delle pure culture direttamente alla prima per l'infissione in questi terreni con l'ago intriso nei diversi materiali patologici; altre volte invece ho dovuto praticare culture a piatto in cassette rettangolari di cristallo coperte da un vetro smerigliato spalmato di paraffina, e collocate nel termostato il più che era possibile in un piano orizzontale. Avendo la precauzione di non imprimere scosse alla stufa nell'aprire e chiudere, e contornando la cassetta di piccoli pezzi di ghiaccio prima di rimuoverla dal piano orizzontale, per ottenere così che la gelatina ed il gelosio si sieno consolidati, dopo tre o quattro giorni si possono avere isolate delle colonie di pneumococco, le quali al microscopio appaiono rotondegianti, semiopache centralmente coi bordi regolari e splendenti e come cosparsi di fini granelli di sabbia.

La massima virulenza del pneumococco per le culture fatte in questi terreni è fra le 12-15 ore, poscia gradatamente il suo potere patogeno va diminuendo fino ad estinguersi completamente dopo un tempo che varia dai 5 ai 14 giorni, perdendo anche la proprietà di riprodursi in altri terreni di cultura simili. Rinnovando ogni due giorni le culture, esso subisce la nota attenuazione completa dopo 33, 40 generazioni, conservando però la proprietà di riprodursi e si trasforma in un piccolo streptococco.

Su questa attenuazione del potere patogeno influenza grandemente la luce. Le esperienze a questo riguardo furono eseguite comparativamente a quelle dello streptococco piogene, dappoiché anche questo microrganismo nei terreni semisolidi, perde col tempo moltissimo della sua virulenza. Il pneumococco dopo 18 generazioni è inattivo allorchando sia esposto alla luce diffusa, mentre conserva ancora la sua attività, sebbene molto attenuata, ove venga coltivato perfettamente allo scuro. La luce solare diretta v'influisce più potentemente: culture in gelosio tenute al sole per 6-7 ore hanno perduto tanto della loro virulenza che vi è bisogno, per ottenere un'infezione, di una quantità di virus quadrupla almeno di quella nelle identiche condizioni e della medesima provenienza, conservata perfettamente al sicuro dalla luce. Lo streptococco piogene perde anche esso con molta maggior rapidità la sua virulenza se si fa sviluppare sotto l'azione della luce, ed in questo caso con maggior rapidità se le culture sono fatte nei miei terreni semisolidi e tenute alla temperatura di 37° c. che nelle gelatine comuni alla temperatura della stanza.

Mi affretto però a far riflettere che con queste esperienze eseguite con mezzi insufficienti non sono arrivato più in là dello stabilire il fatto puro e semplice: che la luce favorisce l'attenuazione spontanea di questo microrganismo.¹ La cosa, importantissima specialmente dal punto di vista dell'igiene, meriterebbe un esame più accurato, affine di ritrovare le leggi che indubbiamente devono governare questa efficace azione fisica attenuante; ma io sono costretto a lasciar questi studi a persone che in particolare si occupano di tali questioni, provviste di tutti i mezzi necessari per eseguirli.

Voglio inoltre qui accennare ad alcune ricerche dell'azione che spiega sul pneumococco lo ioduro di potassio, perchè mi sembra che i risultati ottenuti fino ad un certo punto servano a darci la ragione di alcuni reperti clinici ed anatomo-patologici, che spesso si danno quando, per la cura della polmonite si adoperino i metodi abortivi proposti dallo Schwarz.² Le ricerche sono state fatte sempre confrontando colture in brodo che contenevano per 10 c. c. 0,04-0,05 0,1-0,2 grm. di ioduro di potassio, con altre colture in brodo senza ioduro con la stessa proporzione di peptone, sale di cucina e grado di alcalinità. Già nelle proporzioni più deboli apparisce nettissima la differenza anche dopo 12 ore fra le due specie di colture fatte, per quanto è possibile, nelle medesime condizioni, ed evidentemente nei terreni con più forte quantità di ioduro i microrganismi introdotti con l'ago non sembrano proprio aumentati in numero, mantenendosi perfetta la trasparenza; mentre al contrario nei terreni di controllo appare un forte intorbidamento. Medesimamente facendo colture in 5 c. c. di brodo, ed aspettando qualche ora, in modo che esse sieno alquanto intorbide, introducendo in ciascuna provetta altri 5 c. c. di brodo, con proporzioni tali di ioduro di potassio, che nei 10 c. c. risultanti se ne abbia ad avere gram. 0,05-0,1, ed in altre di controllo uguali quantità di brodo senza ioduro, si nota costantemente che mentre nel momento tutti i tubi di saggio appaiono press'a poco nelle medesime condizioni di trasparenza, in seguito invece in quelli senza ioduro l'intorbidamento cresce rapidamente mentre negli altri non sembra aumenti affatto. Questi risultati concordemente dimostrano, dopo

¹ Questo fatto presenta molte analogie con le esperienze fatte dal prof. Celli per l'influenza della luce sul virus rabbioco. - Boll. della R. Acc. med. di Roma, fascic. VIII, anno 1886-87.

² LUIGI GUALDI, *La cura dello Schwarz nella polmonite*. Bullettino della R. Accad. med. di Roma, anno X, n. 2, 1884.

numerose prove, che lo ioduro di potassio ostacola potentemente la moltiplicazione del microrganismo della pulmonite. Però nei terreni iodurati il microrganismo della pulmonite conserva la vitalità per qualche giorno (3-6), e trasportato in altri terreni torna a godere delle sue note proprietà e fra l'altro si attenua fino a perdere qualunque potere patogeno.

Anche sull'azione del disseccamento ho avuto agio di eseguire numerose ricerche, intraprese fino dallo scorso luglio, le quali mentre sono servite a controllare completamente quanto è stato stabilito a questo riguardo da Foà e da Bordoni-Uffreduzzi, mi hanno anche condotto alla conoscenza di alcune altre particolarità degne di essere menzionate.

Nelle mie esperienze i risultati sono stati diversi se il disseccamento era praticato stendendo un sottile strato di materiale ricco di pneumococchi fra due vetrini d'orologio, alla maniera descritta da Foà e Bordoni-Uffreduzzi, ovvero sospendendo delle barbe di penne sterilizzate ed intrise nello stesso materiale sotto la campana di uno dei comuni disseccatori ad acido solforico, od a cloruro di calce.

Allorchè il disseccamento si pratica nella prima maniera, ossia in un modo meno rapido e meno completo del secondo, è indubitato che una quantità molto forte di microrganismi periscono. Di questo fatto mi sono accertato con ripetute prove, iniettando ad un coniglio una decima parte di un centimetro cubico di sangue di altro coniglio morto per la caratteristica setticoemia, ricchissimo sempre di diplococchi, e gli animali sono morti sempre dopo 3-4 giorni. Mentre al contrario con una iniezione in conigli della stessa età, di una quantità doppia, quadrupla di una poltiglia dello stesso sangue disseccato a 37° c. circa, e sciolto con qualche goccia di brodo sterilizzato nella maggioranza dei casi, ossia di 7 su 10, sono perfettamente guariti dopo una leggera tumefazione edematosa sul punto e nei dintorni della iniezione, come suole accadere allorchè s'inoculano delle quantità minime di virus. Nè si può dire che la virulenza dei microrganismi superstiti era attenuata, chè posti in cultura in gelosio e gelatina nel termostato, dopo 12-15 ore, aspettando che fossero sufficientemente moltiplicati, con la inoculazione in conigli nella maniera ordinaria, questi morirono sempre per setticoemia acutissima.

Che un numero forte di microrganismi perisca ove vengano sottoposti così all'azione del disseccamento con una relativa lentezza viene dimostrato anche dall'esame microscopico. Difatto, esaminando dei preparati convenientemente colorati della poltiglia di sangue secco bagnato con brodo sterilizzato si ritrova una grande quantità di piccole capsule distintamente

riconoscibili, dentro le quali non si rinvencono più i caratteristici diplococchi, ma le ombre dei medesimi affatto scolorati, solo però alcune molto rare qua e là contengono due puntolini finissimi intensamente colorabili che senza dubbio vanno interpretati per quegli individui che hanno resistito al disseccamento, mentre gli altri sono tutti periti.

Quando invece il disseccamento venga fatto con le barbe di penne sotto la campana di disseccatori, ossia nella più rapida maniera possibile senza sorpassare la temperatura di 37° per lo stesso materiale adoperato nel primo modo di sperimentare, la perdita di virulenza è così minima che riesce assolutamente inapprezzabile. Difatti mettendo sotto la cute di conigli barbe di penna intrise di fresco in materiale ricco di pneumococchi o dopo più o meno prolungato disseccamento, gli animali sono tutti morti senza eccezione dopo 8 a 10 giorni, ed un coniglio al quale s'innestarono barbe di penna, restate nel disseccatore per 4 mesi, morì dopo 12 giorni in preda alla nota setticoemia.

Questa speciale resistenza dei pneumococchi al disseccamento si verifica per quelli specialmente contenuti nel sangue di animali e, ciò che è più interessante, per quelli contenuti nell'acqua di lavaggio degli escreti rugginosi di pulmonitici in prima e seconda giornata di malattia, mentre invece per quelli provenienti dalle culture, in particolar modo da quelle fatte nella maniera da me proposta, resistono assai poco alle prove di disseccamento.

Per istudiare le proprietà morfologiche del micrococco lanceolato ed il modo di moltiplicarsi mi son servito delle culture in gocce pendenti. Per tale scopo io soglio sospendere ad una lastrina coprogetti delle piccolissime quantità di gelosio e gelatina liquefatta, nella quale si contenga il microrganismo in pura cultura, e dopo averle tenute in camera umida ed al termostato per 24 ore le immergo in una soluzione alcoolica di turchino di metilene, dove ordinariamente le lascio dalla sera alla mattina. Lavo quindi il coprogetti con la goccia di gelatina solidificata con molta precauzione in acqua pura, e la adatto su di un portaoggetti incavato, ovvero sopra una goccia di gelosio liquefatto, o di levulosio, avendo la cura in questi ultimi casi di frapporre lateralmente due sostegni di ritagli di carta, e di circondare il preparato con una cornice di mastice. Le preparazioni cosiffatte si possono osservare molto comodamente anche con le lenti ad immersione omogenea, e si possono studiare così le diverse fasi di sviluppo e di scissione di questi microrganismi.

La maggior parte di essi hanno l'aspetto di proiettili conici accoppiati e riuniti per le loro basi e le coppie disposte in serie, a seconda del loro

diametro massimo.⁴ A volta si nota che uno dei membri, o amendue, della coppia medesima hanno già nella parte mediana una piccolissima incisura bilaterale la quale si rileva solo quando si osservi il preparato con molta attenzione, e si riconosce, se la colorazione col turchino di metilene è molto leggera, per l'immagine proiettiva di un piccolo solco che circonda tutto l'elemento. Si comprende facilmente come questo rappresenti il solco iniziale di segmentazione del cono, che procede con certa lentezza, e la parte più centrale dell'elemento si divide relativamente molto tardi. Talmentechè avviene la formazione di giovani coppie di cocchi, quando la segmentazione della coppia madre è ancora incompleta e resta tuttavia fra i diplococchi novelli un sottile tratto d'unione colorabile.

Questo, a mio avviso, serve a spiegare la forma speciale acuminata che questo microrganismo spessissimo assume, e che gli meritò il nome di lanceolato. Dappoichè si comprende facilmente che allorquando la moltiplicazione avviene in condizioni che la serie abbia a sopportare azioni meccaniche tali da determinare, per esempio, degli stiramenti sulla medesima, il distacco dei nuovi elementi avviene, per così dire, precocemente, il sottile tratto di sostanza, sul quale si deve compire ancora il processo di segmentazione, si distende, si assottiglia, e le due parti si allontanano terminando in punta, laddove altre volte, in istato di quiete, si abbandonano rotondeggianti. Difatto questi microrganismi lancettiformi si rinvengono specialmente nel sangue ed anche nelle culture in terreni semisolidi quando si sieno sottoposti i tubetti a scosse ripetute alla maniera che si suole praticare per abbassare la colonna mercuriale nei termometri clinici a massima.

In cosiffatte preparazioni si nota anche come ciascuna serie di questi diplococchi sia contornata da una guaina che possiede una rifrazione diversa della massa gelatinosa circostante. Questa specie di camicia però si dimostra con maggiore evidenza se si distendono con molta precauzione su di una lastrina coprioggetti i fiocchi di una pura cultura in terreni semiliquidi, si dissecchi ad aria calda e si colori con metodi adatti. Allora si nota come questo involucro abbia una struttura finamente fibrillare nel senso longitudinale della serie, quasi fosse un manicotto formato da diversi strati di so-

⁴ Questi corpicciuoli, osservati allo stato fresco e senza colorazione, misurano in lunghezza 1 μ ad 1,2 μ , in larghezza 0,5 μ a 0,7 μ . Per queste dimensioni alla scuola di Koch (E. Fränkel) sono stati con ragione denominati *bacilli*: io ho seguito coloro che li hanno chiamati *cocchi* (A. Fränkel, Weichselbaum, Foà e Bordoni-Uffreduzzi) solo per evitare confusioni e distinguerli così dai *pneumobacilli* di Friedländer.

stanza. Indubbiamente tali rivestimenti stanno a rappresentare l'equivalente della capsula della quale questi microrganismi possono essere provvisti allorchè penetrano o sono introdotti sperimentalmente nell'organismo animale.

Però anche allo stato di saprofita nelle culture in siero di sangue sterilizzato e lasciato liquido o nel siero d'idrocele sterilizzato, questo microrganismo si riveste a volta di una vera e propria capsula, la quale è molto simile a quella che posseggono allo stato di parassiti e per la reazione chimica e per la maniera di comportarsi con i metodi di colorazione. Difatti si ha sempre una costante reazione con il reattivo di Millon, o che esso provenga dalle culture testè nominate, o dalla pleura, o dal polmone, o dalla meningite. Il materiale disteso sulla lastrina coprioggetti rapidamente disseccato alla lampada ed immerso per qualche minuto nel nominato reattivo di recente preparazione, riscaldandolo leggermente si colora in giallognolo, mentre le capsule appaiono di un color rosa pallido ed i microrganismi in esse contenuti perfettamente scolorati come corpicciuoli brillanti.

Nell'involucro capsulare di questi microrganismi parrebbe esistessero adunque dei corpi albuminoidi, anche se provenienti dall'essudato polmonare. Questa ipotesi viene rafforzata dal fatto che le capsule in gran parte si sciolgono, non restando di loro che larve non colorabili, ove i preparati vengano immersi direttamente in soluzioni al 2% di cloruro di sodio e vi si facciano restare per lungo tempo, mentre in una soluzione satura dello stesso sale rimangono contratte e son capaci di colorarsi intensamente. Per questa ragione io soglio adoperare, per ottenere preparati di pneumococchi con le capsule colorate, il noto miscuglio di Ehrlich (alcool p. 15, olio di anilina p. 4, violetto di Genziana p. 1, acqua stillata p. 80) dove si lascia il preparato solo per qualche secondo, e successivamente si lavano ripetutamente in una soluzione satura di sale di cucina, poscia rapidamente in acqua stillata e quindi si fissano con una goccia di balsamo sciolto in xilol.

Il modo di comportarsi delle capsule con le soluzioni di cloruro di sodio farebbe pensare che i corpi albuminoidi che vanno a far parte di esse sieno quelli che appunto godono di tali proprietà, per esempio la miosina, la plasmina (fibrinogene), la paraglobulina (fibrinoplastico). E specialmente in favore dell'esistenza in esse di quest'ultima sarebbe il fatto, che nelle culture del microrganismo in parola nel liquido pleurico o d'idrocele sterilizzato dopo 30-40 ore si notano dei fiocchi, che nei preparati si riconoscono per coaguli di fibrina i quali impigliano fra i sottili filamenti un numero più o meno considerevole di microrganismi. Alla stessa maniera di quando, per esempio, in liquido d'idrocele ricco di fibrinogeno facendo cadere una

goccia di liquido ricco di fibrino-plastico si ottengono dei cenci di fibrina di struttura perfettamente identici a quelli delle suddescritte culture. Fatti analoghi ho visto avvenire con culture di streptococchi piogeni, mentre con altri microrganismi, per esempio, con il micrococco prodigioso il liquido di idrocele acquista invece una maggiore mobilità.⁴

Secondo queste ricerche, il guscio capsulare, del quale più o meno il pneumococco sempre è rivestito, nelle sue più svariate condizioni di vita parrebbe fosse null'altro che il prodotto di trasformazione delle sostanze nutritive che hanno servito alla sua vita, in mezzo al quale esso è immerso necessariamente per la sua immobilità, e che per la speciale consistenza vischiosa lo accompagna anche se esso viene spostato. Mi pare più verosimile questa interpretazione di quella, del considerare cioè la capsula come un involucro di protezione, del quale il pneumococco si provveda proprio per la difesa dell'esistenza; sebbene non è detto così che in circostanze speciali essa possa anche funzionare come un vero e proprio involuppo protettivo. E tanto più sono persuaso della giustezza della prima ipotesi per ciò che ho potuto un numero grandissimo di volte osservare nei preparati fatti dal caratteristico edema emorragico, che suole seguire l'iniezione sottocutanea di pure culture di pneumococchi nei conigli.

Con adatte colorazioni in questi preparati si rinviene ordinariamente una quantità immensa delle note capsule le quali, in parte contengono nel loro centro una o più coppie di diplococchi, mentre il maggior numero ne sono sprovviste completamente. In queste preparazioni i microrganismi sono colorati intensamente, e si possono studiare in tutte le loro gradazioni di volume, finchè appaiono come due piccoli puntolini simmetricamente posti ad una certa distanza fra di loro.

Senza dubbio in questi casi si è di fronte ad un numero più o meno considerevole di resti non colorabili di pneumococchi, evidentemente morti, dei quali rimane però il guscio che l'involuppava, che probabilmente ha in sé accumulate sostanze non adatte alla vita del microrganismo. Ed allora s'in-

⁴ Quale importanza si debba anettere a queste osservazioni in rapporto alla fisiopatologia delle infiammazioni fibrinose ora io non saprei dire. Però è indubitato che deve esistere un nesso fra le proprietà biologiche di taluni microrganismi e la formazione della rete fibrinosa caratteristica di certi processi patologici, poichè coincide il fatto della coagulazione dei liquidi fibrinogeni in forme diverse anatomo-patologiche e cliniche con identiche e determinate cause morbose, per esempio la polmonite pleurite, pericardite, ecc., erisipela, gastrite flemmonosa, polmonite lobare fibrinosa nel morbillo, ecc.

tende perchè dopo pochi giorni le culture, specialmente quelle eseguite in gelosio e gelatina nutritiva, spontaneamente perdono la virulenza e la proprietà di riprodursi in altri terreni nutritivi simili, mentre, pur trasformando le loro proprietà, seguitano a vivere ed a riprodursi se a loro si rinnovi spesso il letto di cultura. Come pure si capisce la ragione perchè questo micrococco non si moltiplica dopo gli innesti di sangue di conigli morti per setticoemia, o dopo passaggi di giovani culture in vecchi terreni già serviti a coltivare pneumococchi e sterilizzati spontaneamente od al vapor d'acqua.

Debbo infine, per ciò che riguarda la parte sperimentale di questi miei studi, riferire in sunto alcuni pochi fatti degni di essere ricordati, i quali non sono solamente dei puri controlli, come i risultati di altre numerose esperienze delle quali taccio assolutamente.

Nelle inoculazioni sottocutance con culture di due o tre giorni di età, dopo 18-24 ore si stabilisce, come è noto, un'edema emorragico più o meno esteso, e solo più tardi l'animale abbattuto, in preda ad un'affezione generale acutissima muore con il reperto anatomico di setticoemia, con caratteristico tumore di milza. In cosiffatti casi nei tessuti edematosi indurati nell'alcool si rinvencono nelle lacune linfatiche più vicine ai vasi, accumuli di elementi cellulari, alcuni dei quali contengono nel loro protoplasma dei diplococchi perfettamente colorabili. I vasi sono infiltrati da queste cellule e talvolta in modo così cospicuo da essere impossibile il riconoscere gli elementi normali della parete vasale. Si comprende così facilmente la patogenesi delle numerose emorragie che accompagnano questo processo, e più di tutto riesce chiara la via per la quale entrano in circolo i microrganismi indubbiamente trasportati dagli elementi migranti attraverso alle pareti medesime dei vasi.

Se l'innesto viene fatto immettendo sotto la cute delle barbe di penna sterilizzate intrise di sangue o di altro materiale contenente pneumococchi, sul luogo si produce un ascessolino più o meno voluminoso ed attorno ad esso più tardi si stabilisce l'edema infettante. Parrebbe in questi casi che la presenza del corpo estraneo determinasse una proliferazione ed una migrazione enorme di elementi cellulari che così accumulati incontrerebbero necessariamente la morte donde la formazione dell'ascesso acuto, e forse è riservato solo agli elementi più periferici di trasportare i microrganismi in continua moltiplicazione, prima per le vie linfatiche e poscia nelle vie sanguigne. Questo reperto sperimentale più volte osservato, non solo per il pneu-

mococco, ma eziandio per lo streptococco dell'eresipela, dimostra come alcuni microrganismi possano acquistare proprietà piogene per condizioni al tutto indipendenti da variazioni delle loro proprietà biologiche, ma solo per variazioni di resistenza dei tessuti organici nei quali essi vanno ad albergare, o per variazione dei rapporti di esistenza fra gli elementi parassitari e gli elementi dell'organismo medesimo. D'altronde dalle cavità ascessuali così prodotte ho ottenuto in molti casi pure culture dei microrganismi immessi: come anche introducendo solo delle barbe di penna sterilizzate ho avuta molte volte la guarigione per prima intenzione. Estirpando la porzione cutanea servita all'esperimento si ritrova il corpo estraneo perfettamente compenetrato con i tessuti adiacenti; attorno ad esso si nota una neoformazione di connettivo, ed alcune cellule bianche ricche di protoplasma attaccano la sottile peluria della barba di penna; negli spazi linfatici adiacenti sonvi elementi pieni di zolle nerastre disposti in fila come in via d'allontanarsi col loro carico. La suppurazione quindi in questi casi trova la necessaria ragione di essere della presenza insieme di corpi estranei con microrganismi che, ove sieno introdotti sotto la cute in altre condizioni producono processi patologici assai diversi. Questi reperti sperimentali rendono forse ragione del perchè molto facilmente la pulmonite abbia l'esito in suppurazione negli individui affetti da pneumocniosi; per esempio in casi di antracosi, come io stesso ho potuto osservare in un carbonaio, il quale, affetto da pulmonite destra, ebbe espettorato purulento nerastro per 15 giorni, e poscia, scomparsi i granuli di carbone dall'escreato, in breve guarì forse anche in parte dal processo antracotico.

Con le iniezioni intravenose di emulsioni acquose di pure culture molto virulenti, previa la lesione delle valvole aortiche alla Ottomar Rosembach, ho ottenuto costantemente un processo di endocardite acuta a forma ulcerosa, ed i conigli sono morti di setticoemia dopo 5 o 6 giorni. Sul punto della lesione, per lo più alla base d'impianto sull'arteria, la valvola si mostra rigonfia, i bordi della medesima erosi, con piccoli trombi aderenti, i resti valvolari friabilissimi. All'esame microscopico ordinariamente un'infiltrazione cellulare ricchissima limita porzioni più o meno estese di valvola necrotica nelle quali si rinvengono accumuli, talvolta enormi, di diplococchi.

Se invece, previe le stesse lesioni predisponenti, s'inietta una cultura attenuata dopo 18-20 generazioni, in luogo del processo ulcerativo si effettua una semplice infiltrazione degli spazi linfatici della valvola attorno al punto della lesione e qualche volta ho notato una proliferazione del connettivo e dell'endotelio in modo da formare dei piccoli nodetti rilevati al di sopra della superficie valvolare. Queste alterazioni anatomiche delle valvole

sono sempre accompagnate da processi più o meno estesi di miocardite. Spesso ho ritrovato questi focolai miocarditici in corrispondenza della parete anteriore del ventricolo sinistro; cosicchè sono portato a credere che sieno sorti in seguito a lesione anche dell'endocardio della parete ventricolare prodotta dalla punta dello stiletto. In queste zone di miocardite si nota una cospicua infiltrazione cellulare fra le fibre muscolari negli spazi linfatici, alcune volte estesa a tutta la spessore della parete del ventricolo. Né negli ispessimenti delle valvole, nè nei nodetti della superficie delle medesime, nè nei focolai di miocardite sono mai riuscito a ritrovare microrganismi ancorchè alcuni conigli sieno stati uccisi appena 8 giorni dopo l'inoculazione: come pure sono riuscite nulle tutte le numerose prove d'innesto nei terreni di cultura. I conigli di controllo con la semplice lesione delle valvole con stiletto sterilizzato, guariscono completamente in breve spazio di tempo, nè si riesce il più delle volte a ritrovare il punto dove fu forata la valvola. Queste alterazioni anatomopatologiche delle valvole aortiche nei conigli con iniezioni intravenose di pneumococchi attenuati fino ad un certo punto mi sembra possano essere paragonate alle endocarditi verrucose negli individui che hanno sofferto di reumatismo articolare. Difatti, oltrechè fra di esse esistono numerose analogie istologiche, esistono pur anco analogie patogenetiche, poichè se sperimentalmente i nodetti e l'infiltrazione cellulare delle valvole si ritrovano sul punto della lesione traumatica, anche nell'uomo le vegetazioni sono disposte d'ordinario, come si sa, lungo le linee di chiusura delle valvole che per ogni rinculo dell'onda sanguigna hanno a sopportare un urto violento a scapito indubbiamente della nutrizione dell'endotelio che le ricuopre. E si aggiunge a questo il fatto che anche nell'endocardite verrucosa nell'uomo non si rinvencono microrganismi di sorta, come ho potuto io stesso osservare più volte nel nostro laboratorio anche in giovani e recentissime vegetazioni, e come hanno eziandio riscontrato E. Fraenkel ed A. Saenger¹ nelle loro ricerche sulla etiologia dell'endocardite. Questa comunanza di reperti batteriologici negativi tanto per le alterazioni sperimentali nei conigli quanto per quelle spontanee nell'uomo non sono certo contro l'ipotesi dell'identificazione etiologica dell'infezione reumatica con quella pulmonitica.

Con le iniezioni di virus attenuato nel parenchima pulmonare dei conigli ho ottenuto alterazioni anatomiche molto gravi e diffuse a tutto il viscere e non solo lievi lesioni a piccoli focolai limitatissimi come quelli descritti

¹ E. FRAENKEL und A. SAENGER, *Untersuchungen über die Aetiologie der Endocarditis*. Virchows'Arch. Bd. 108, Heft. II (p. 289-290).

da Foà e Bordoni-Uffreduzzi. Gli animali per otto o dieci giorni non mostrano di avere alcuna malattia apprezzabile; poscia incominciano a dimagrire e ad essere affannati per il più lieve movimento. L'affanno ed il marasmo crescono ogni giorno fino a che muoiono. Nella prima osservazione, che rimonta al luglio dell'anno scorso, il coniglio morì dopo un mese, il secondo dopo quaranta giorni, ed il terzo fu ucciso dopo ventitrè giorni. All'apertura del torace il polmone non si abbassa, ha consistenza carnosa, poco o punto aereato, si affonda nell'acqua. Le numerose prove di ricerca in questi casi dei microrganismi iniettati nel polmone malato, nella milza, nel fegato riuscirono sempre completamente negativi.

L'esame microscopico dimostra un induramento polmonare con gravissima proliferazione ed infiltrazione cellulare e neoformazione di una rete vascolare, tanto che in alcuni punti non si rinviene più traccia di cavità alveolari. In altri punti dove il processo è meno avanzato si vedono solo i setti interalveolari ispessiti, e si riconosce che il processo ha origine da focolai molto vicini gli uni agli altri con accumuli di piccole cellule rotonde, altre fusiformi, le quali insieme con anse vascolari turgide di sangue fanno sporgenza nella cavità di uno o più alveoli. Le cavità di questi vengono così per l'ispessimento dei setti o ridotte ed uniformemente ispessite, o sformate nelle più irregolari fogge. Spesso in alcuni alveoli si trova accumulato un detrito granuloso in mezzo al quale si rinvengono delle cellule piastriformi. Attorno ai bronchi negli spazi linfatici l'infiltrazione cellulare è più cospicua che altrove.

L'esame istologico di questa forma di pulmonite indurativa nel coniglio prova una volta di più l'importanza generale fisiopatologica dell'attenuazione di alcuni microrganismi per produzioni d'inflammazioni interstiziali, e per il trasformarsi di alcuni processi flogistici acuti in cronici. Nella fattispecie poi il reperto sperimentale ci spiega perfettamente, anche per ciò che riguarda la patogenesi, l'esito in induramento⁴ al quale suole andare incontro talvolta la pulmonite cruposa nell'uomo.

Vero è che fra il processo sperimentale nel coniglio e quello spontaneo nell'uomo esistono a prima vista delle differenze istologiche notevolissime. Difatti le alterazioni anatomiche nell'uomo sono caratterizzate da una organizzazione dell'essudato endoalveolare alla maniera della così detta orga-

⁴ ETTORRE MARCHIAFAVA, *Sull'esito della pulmonite cruposa in induramento ed in caseificazione*. Rivista clinica di Bologna, settembre 1888.

Sull'induramento del polmone consecutivo a pulmonite cruposa. Rivista clinica di Bologna, febbraio, 1884.

nizzazione dei trombi vasali. Gli alveoli sono ripieni di masse connettivali con cellule prevalentemente a forma fusata disposte concentricamente; mentre le pareti degli alveoli si mostrano poco o punto ispessite fino a riscontrarle in taluni casi in istato perfettamente normale. Gli zaffi connettivali endoalveolari si assomigliano a veri e propri polipi che si impiantano con base più o meno estesa sulla parete degli alveoli dalla quale ricevono uno o più vasi sanguigni. Nei momenti incipienti del processo si vede come esso sorga a focolaio in uno o più punti della parete dell'alveolo, dalla quale si spiccano le anse vascolari nutritizie e che la sostituzione di tessuto connettivo all'essudato fibrinoso progredisce di pari passo che i vasi progrediscono. Gli stadi iniziali del processo patologico nell'uomo adunque sono del tutto analoghi a quelli sperimentali nel coniglio, e le differenze istologiche apparentemente così cospicue fra l'uno e l'altro caso si stabiliscono ed aumentano in seguito col progredire delle neoformazioni. E la ragione di questo appare evidente ove si considerino le diverse condizioni nelle quali si stabilisce nell'uomo l'indurimento come esito di una infiammazione fibrinosa progressiva; e nel coniglio come un processo primitivo in un polmone senza dubbio sano e fisiologicamente funzionante. Si comprende quindi come nel primo caso i centri di proliferazione e d'infiltrazione cellulare destinati ad un accrescimento progressivo, che non possono sorgere per questa ragione che in prossimità dei vasi, trovino le più favorevoli condizioni per invadere l'essudato che riempie la cavità degli alveoli perfettamente impervii all'aria dove non incontrano nessuna resistenza, piuttostochè diffondersi nel connettivo dei setti alveolari.

Laddove invece nel caso sperimentale ad alveoli integri i focolai di neoformazione e d'infiltrazione cellulare debbono necessariamente estendersi nel tessuto dei setti, nelle varie vie linfatiche (spazi perivascolari e peribronchiali) incontrando una potente resistenza a spingersi a guisa di granulazioni nelle cavità alveolari, poichè per la funzione respiratoria la pressione atmosferica tende quanto più può a mantenere le cavità aeree aperte. Per queste considerazioni mi pare non cada alcun dubbio si debba ritenere, che la diversità delle apparenze istologiche non frappongono alcun ostacolo all'applicazione dei dati scientifici sperimentali per l'interpretazione fisiopatologica del processo spontaneo nell'uomo. Cosicchè l'esito in indurimento della pulmonite fibrinosa sarebbe legato etiologicamente all'azione patogena secondaria sul viscere del pneumococco attenuatosi in sito durante il corso del processo acuto, per condizioni speciali forse dell'individuo malato, alcune delle quali sono note anatomicamente e clinicamente, come l'età avanzata, l'infezione malarica, i vizi cardiaci.

