



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CAGLIARI
FACOLTÀ DI SCIENZE DELLA FORMAZIONE

DOTTORATO IN STORIA, FILOSOFIA E DIDATTICA
DELLE SCIENZE (M-STO/05)

**LITI, DISPUTE E CONTROVERSIE DI SCIENZIATI SUL
VACCINO ANTICARBONCHIOSO NELLA SECONDA
METÀ DEL XIX SECOLO**

Supervisore
Prof. Antonio CADEDDU

Dottorando
Dott. Franco FARRIS

Anno Accademico 2006/2007

A mia madre

INDICE

I *Introduzione*

CAPITOLO I

- 1 I.1 Louis Pasteur. Biografia e formazione scientifica
11 I.2 Gli studi sul carbonchio e l'esperimento di Pouilly-le-Fort nella vulgata storiografica
20 I.3 Robert Koch. Biografia e studi medico-scientifici

CAPITOLO II

- 29 Ricostruzione storica della querelle scientifica e non, tra i fautori della moderna medicina. Il caso del carbonchio

CAPITOLO III

- 66 Fonti, scienziati, aspetti e querelle sul vaccino contro il carbonchio

CAPITOLO IV

- 103 Controversie vere (e immaginarie) sulle teorie pasteuriane in Italia
126 IV.1 Il contributo italiano del prof. Edoardo Perroncito
131 Alcune riflessioni personali (conclusive e provvisorie)

APPENDICE

- 141 La vaccination charbonneuse. Réponse a un Mémoire de M. Koch (L. Pasteur)
188 De l'attenuation de virus. [Avec la collaboration de MM. Chamberland, Roux et Thuillier] (L. Pasteur)
231 Über die Milzbrandimpfung. Eine Entgegnung auf den von Pasteur in Genf gehaltenen Vortrag. (R. Koch)
281 Die Aetiologie der Milzbrand-Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis (R. Koch)
351 Recherches expérimentales sur la maladie charbonneuse (H. Toussaint)
(Traduzioni: introduzione, cap. II, III, VIII)
444 *Bibliografia*

*Liberarsi dal peso della tradizione
è sempre la prima causa delle scoperte*
(Edward De Bono)

Le malattie infettive prima dell'avvento della microbiologia

All'inizio del diciannovesimo secolo le cause delle malattie venivano distinte in due categorie: le *interne*, che nascono nell'organismo, e le *esterne*, dall'ambiente; nella seconda metà dell'Ottocento, la malattia infettiva viene spiegata invece da una causa autonoma e specifica.

L'idea che anche "esseri viventi microscopici", fossero coinvolti come elementi nell'eziologia delle malattie infettive era stata avanzata in più occasioni, ma, se era già stata dimostrata sperimentalmente, ancora non era entrata nella concreta pratica operativa e nella cultura di base, basterà ricordare almeno nella fecondissima era galileiana, il medico F. Redi (1626-1698), un vero antesignano del metodo sperimentale nel campo biologico, che aveva contestato la vetusta e (ostinata) teoria della generazione spontanea, secondo la quale, vari tipi di animali, per esempio, i vermi, si dovrebbero produrre spontaneamente dalla materia in corruzione. Il Redi dimostra sperimentalmente come nella carne in putrefazione si sviluppino vermi soltanto da uova deposite precedentemente da insetti; e formula così l'assioma della teoria ovulista; il medico M. Malpighi (1628-1694) l'iniziatore della moderna biologia microscopica e il suo contributo all'embriologia; l'attenzione che Cartesio (1596-1650) dava alla sperimentazione e al dettaglio matematico, nella ricerca biologica del XVII secolo, con la teoria degli animali macchina.

Gli organismi microscopici furono osservati con precisione dagli olandesi A. von Leewenhoek (1632-1723), che scoprì le cellule seminali maschili, ma divennero oggetto di rilevante attenzione scientifica solo all'inizio dell'Ottocento, anche per effetto del miglioramento del microscopio, cui diede notevole contributo Jan Swammerdan (1637-1680) con i suoi studi sulla metamorfosi degli insetti.

L'origine della parassitologia come disciplina scientifica può essere fatta risalire ancora al Redi nell'opera "Le osservazioni intorno agli animali viventi che si trovano negli animali viventi" (1684) in cui si scopre il fenomeno del parassitismo microscopico e nelle "Esperienze intorno alla generazione degli insetti" (1668) in cui così si esprime:

Io mi sento, dico, inclinato a credere che tutti quei vermi si generino dal seme paterno; e che le carni, e

l'erbe, e l'altre cose tutte putrefatte, o putrefattibili non facciano altra parte, né abbiano altro ufizio nella generazione degl'insetti, se non d'apprestare un luogo o un nido proporzionato, in cui dagli animali nel tempo della figliatura sieno portati e partoriti i vermi, o l'uova, o l'altre semenze dei vermi, i quali tosto che nati sono, trovano in esso nido un sufficiente alimento¹.

Nei primi decenni dell'Ottocento, è molto interessante l'opera di Carl Rudolphi, *Entozoorum synopsis* (1819) includente circa 1000 specie di vermi parassiti. La conoscenza dei parassiti microscopici cresce durante l'Ottocento; le osservazioni su di essi si moltiplicano; viene realizzata una classificazione sistematica, i rapporti di causalità circa le malattie sono determinati con precisione e diversificati; J. C. Davaine (1812-1882), che studiò la natura della relazione biologica fra ospite e parassita, non ritiene se non in casi limite, di attribuire ai parassiti il ruolo di causa delle malattie infettive, favorendo invece una visione di "simbiosi": "l'essere che vive di un altro se lo associa e il suo interesse è di conservarlo, non di distruggerlo".

Osservazione curiosamente dimostrativa a suo modo delle energie vitali degli esseri viventi e, più in generale, della circolarità dei rapporti che li legano, non interessando all'individuo microscopico altro che la sua cieca sopravvivenza.

Agostino Bassi (1773-1856) fornisce la prima prova sperimentale che la causa di una malattia infettiva di un animale, il baco da seta, debba essere attribuita ad un'infezione provocata da un essere vivente microscopico. Il caso celebre che mostrò la difficoltà di sviluppare e far accettare una spiegazione contagionista delle malattie infettive è costituito dalla scoperta, da parte d'Ignaz Semmelweis (1818-1865), della natura contagiosa della febbre puerperale; egli comprese che questa malattia era causata dalla "trasmissione di materia putrefatta" di una donna malata al neonato da parte del personale medico e paramedico non adeguatamente protetto, durante il parto. Le osservazioni microscopiche e cliniche sulle malattie infettive si intensificarono negli anni Cinquanta del XIX secolo, durante l'epidemia di colera del 1854, diversi

¹ F. Redi, *Esperienze intorno alla generazione degli insetti*, a cura di B. Fantini, ed. Teknos, Roma, 1994, pp. 10-11.

ricercatori individuaronο i bacilli colerici e fu il medico italiano Filippo Pacini (1812-1888), lo scopritore del bacillo colerico, prima del batteriologo Robert Koch.

La fondamentale incidenza dell'igiene e dell'antisepsi, propuguate a partire dalla fine del XVIII secolo, ebbero importanti caratteri di novità, ma erano ancora fortemente limitate dalla mancanza del concetto di "specificità" delle malattie e delle conoscenze fondate sulla loro eziologia; per gli igienisti, una malattia epidemica, può essere causata da una serie molteplice di fattori quali il terreno, l'aria, l'acqua, gli alimenti, i miasmi, i rifiuti, l'urbanizzazione, il lavoro, la sessualità o la cattiva educazione; attribuendo ai "veleni" presenti nell'ambiente la causa delle epidemie, introdussero il concetto che le sostanze in decomposizione, anche in piccole quantità, erano tuttavia capaci di provocare nell'organismo modificazioni patologiche "per contatto"; gli studi del chirurgo inglese Joseph Lister (1827-1912) che, mise in atto le prime misure d'antisepsi, sono però da collegare a Pasteur.

Proprio nel campo medico, la prima applicazione pratica del pasteurismo è l'uso di additivi chimici quali l'acido fenico ed il bicromato di potassio, capaci di distruggere i germi, organismi semplici presenti sulla ferita. Giusta celebrità ebbe l'igienista europeo della seconda metà del XIX secolo Max von Pettenkofer (1818-1901), che introdusse il metodo sperimentale nell'igiene, studiando soprattutto gli elementi chimici dell'ambiente, del terreno in particolare e delle sue modificazioni come causa delle epidemie. Con queste innovazioni si portò l'attenzione non soltanto sul singolo malato, ma sulla profilassi e sulla rilevanza sociale delle malattie; ciò comportò una nuova legislazione della sanità pubblica ed una messa in opera di profilassi generalizzate contro le malattie endemiche ed epidemiche e favorì la collaborazione sanitaria internazionale. I grandi fautori di questi studi, Robert Koch e Louis Pasteur, approfondirono sistematicamente la ricerca sulle malattie a livello microcellulare, con la identificazione e la correlazione tra microrganismi patogeni e malattia; in particolare quelli eseguiti da Pasteur, furono propiziati dai lavori sulla dissimmetria molecolare, i processi fermentativi e la generazione spontanea.

L'intuizione che i processi demolitivi della fermentazione non derivassero solo da meccanismi di natura chimica fu di Giovanni Fabbroni (1752-1822) che nella Memoria "*Ragionamento sull'arte di fare il vino*" (1787), scrive che gli agenti della fermentazione alcolica non erano solamente gli acidi che agivano sullo zucchero bensì

una “materia vegeto-animale”, capace di indurre l'immediata fermentazione nei corpi ove era presente.

Ch. Cagniard de Latour (1776-1859) nel 1836 con la pubblicazione della *Mémoire sur la fermentation alcoolique* diede una descrizione precisa della struttura e del ruolo del lievito; risultati che raggiunse, indipendentemente, l'anno successivo Th. Schwann (1810-1882).

La teoria sulla generazione spontanea viene ripresa dall'inglese Needham (1713-1781) e confutata dall'italiano Spallanzani (1729-1799) nell'opera *Saggio di osservazioni microscopiche concernente il sistema di Needham e Buffon* del 1765.

Pasteur dagli studi sulla fermentazione, con la Memoria del 1860², perviene alla teoria della specificità dei fermenti - il genere di fermentazione dipendeva essenzialmente dalla natura del microrganismo e trasse la tesi che i processi fermentativi erano correlati alla vita, così come le cause delle malattie infettive, e cioè dipendenti da esseri viventi invisibili ad occhio nudo.

Veniva così anche risolta una contraddizione del movimento igienista che, proponendo un programma di dimensioni gigantesche otteneva risultati parziali e locali, facilmente vanificati da fattori imprevedibili³. La nuova medicina scientifica, la microbiologia consentiva ormai di tenere lontane le cause patologiche e prevenire le malattie diventava più importante e più efficace che guarirle⁴; i postulati di Henle, Klebs e Koch costituirono infine la base scientifica della nuova disciplina batteriologica, definendo i criteri per la determinazione delle cause specifiche delle malattie endemiche ed epidemiche.

Nel periodo compreso fra il 1885 e il 1890 si sviluppò una rivoluzione medico-scientifica (con analoghi effetti sul piano socio-culturale), derivata dalla microbiologia conseguente scoperta di vaccini atti alla profilassi delle malattie infettive da essi provocate, che porterà all'abbandono delle teorie miasmatiche e all'identificazione di contagio e infezione.

Una malattia infettiva è dovuta alla presenza continua e costante di un germe *specifico*, anche se altri fattori (elementi climatici, terreno, etc...) possono modularne

² L. Pasteur, *Œuvres complètes*, Paris, Masson, 1922-39, vol. II, pp. 51-126.

³ M. D. Grmek, *Storia del pensiero medico occidentale. Dall'età romantica alla medicina moderna*, Laterza, Roma, 1984, p. 175.

⁴ Pasteur, sulla “Revue Scientifique” nel 1882.

l'azione.

Nell'idea del *contagium vivum* come causa di una malattia epidemica, si evidenziano tre aspetti teorici importanti: il primo, l'idea che ci sia qualcosa di materiale o immateriale, il *contagium*, il quale si trasmette da un individuo malato ad uno sano, provocando la malattia; il secondo, il contagio deve essere *vivum*, un organismo semplice e visibile al solo microscopio capace di svilupparsi all'interno dell'organismo invasore; infine, il terzo, il batterio o germe è la *causa specifica* della malattia infettiva che si sviluppa nell'uomo sano o nell'animale che sia.

Le nuove teorie sulla natura delle malattie infettive andavano strettamente collegate alle teorie sulla generazione, in ambedue trattandosi di "semi" che, trasferiti, originavano una nuova vita.

Qualora non si riesca a difendere l'organismo dall'invasione biologica da batteri si passerà alla vaccinazione, lo strumento terapeutico adeguato per evitare che un germe prosperi nell'organismo sano col contagio fra la popolazione, immunizzandolo, e alla lotta contro il germe vero e proprio, e al risanamento degli organismi vettori del contagio.

Come pare di poter qui anticipare e riferire ogni rivoluzione si compie (e spesso anche soltanto tenta di compiersi) al cospetto della tradizione: la microbiologia non nasce dal nulla; doveva confrontarsi con le credenze "scientifico-popolari" e con la scarsità dei supporti tecnologici e culturali - spesso accompagnati da oscuri fatalismi e ostinati pregiudizi - che aprono il problema del "destino" dell'umanità (per i filosofi) ma anche della sua evoluzione o, meglio del suo progresso scientifico. Non sembri fuori luogo che Koch durante una conferenza svoltasi alla riunione annuale della Società tedesca di sanità pubblica nel settembre 1894 a Magdebourg, dopo aver lungamente trattato delle misure di lotta da adottare contro il colera, alla luce della nuova teoria batteriologica, parlò in maniera poco elogiativa di quanto era stato fatto a proposito della collaborazione sanitaria internazionale. Come esempio indicò la Conferenza di Dresda del 1893, nella quale non si parlò di profilassi ma solo di eliminare gli ostacoli al commercio e ai viaggi; mentre in quella tenutasi a Parigi nel 1894 si ebbe il solo obiettivo di sbarrare alcune vie d'accesso per la lotta al colera. L'obiettivo doveva essere più ambizioso:

Sono dell'opinione che questi sforzi internazionali sono del tutto superflui, perché la migliore protezione sarebbe che ogni stato facesse quello che noi facciamo, aggredisse cioè il colera alla gola e lo distruggesse per sempre⁵.

La difesa contro la proliferazione delle malattie infettive doveva consistere, da una parte nella realizzazione d'incisivi strumenti d'indagine epidemiologica e di lotta su scala nazionale, si onde evitare che la malattia potesse diffondersi, ma anche dall'altra nella scoperta ed eliminazione dei focolai.

I prerequisiti per una radicale lotta alle malattie infettive erano dunque costituiti e del miglioramento delle condizioni di salute e la conoscenza epidemiologica a livello complessivo, si fecero carico organizzazioni sanitarie internazionali, quali *l'Ufficio d'Igiene della Lega delle Nazioni* nel periodo fra le due guerre mondiali e *l'Organizzazione Mondiale della Sanità*, poi.

E pare anche indispensabile rilevare il ruolo del modello metodologico sviluppato da questi studiosi, di F. Bacone (1561-1626), filosofo inglese, fondatore dell'empirismo, che, come aveva intuito nel *Novum Organum* (1620), occorre una "pars destruens" delle cognizioni scientifiche obsolete, infondate e mitologiche e ad essa unire una "pars construens" fondata sull'osservazione sistematica e gradualmente accertata fino alle "istanze prerogative" l'istanza cruciale che costituiva le "vendemiatio" e dunque lo sbocco alla "instauratio magna": la microbiologia rappresenta questo passaggio "rivoluzionario" e la querelle tra Pasteur e Koch, che mi accingo a presentare appare come un aspetto non essenziale, se pur interessante, della evoluzione scientifica che attuarono, arricchendola della loro complessa personalità.

⁵ M. D. Grmek, *ibid.*, p.175.

I. 1 Louis Pasteur. Biografia e formazione scientifica

Louis Pasteur nacque a Dôle, nella regione del Jura francese, il 27/12/1822, da genitori di modeste condizioni economiche.

Terminate le scuole elementari nella vicina Arbois, a Besançon conseguì nel 1842 la Licenza al liceo; si classificò quarto al concorso per la frequenza nella Scuola Normale, laureandosi nel 1847 con due tesi: una di Chimica, ispirato da alcuni lavori del chimico Eilhardt Mitscherlich, intitolata: “*Ricerche sulla capacità di saturazione dell’acido arsenioso*”; l’altra di Fisica: “*Studio dei fenomeni relativi alla polarizzazione rotatoria dei liquidi*” per il suo interesse alla cristallografia.

Nel 1848, fu nominato professore di Fisica al Liceo di Digione e l’anno successivo divenne supplente alla Cattedra di Chimica dell’Università di Strasburgo; nello stesso anno sposò la figlia d’Auguste Laurent, Rettore di quell’Università, dalla quale ebbe tre figli, Jeanne, Jean Baptiste e Marie Louise; il matrimonio fu felice e la moglie rimase sua compagna fedele e preziosa per tutta la vita.

Proseguì gli studi di cristallografia che, presentati all’Accademia da Senarmont, gli assicurarono apprezzamenti e incoraggiamenti da parte dei membri dell’Accademia stessa, tra cui Dumas e Biot.

La scoperta dell’isomeria portò Pasteur ad evidenziare il diverso comportamento che rispetto la uguale struttura molecolare, presentano le sostanze organiche proprie della natura viva e le sostanze minerali, quelle proprie della “natura morta” e ne affermò la dissimmetria.

Allorquando un raggio di luce solare colpisce una foglia verde e il carbonio dell’anidride carbonica, l’idrogeno dell’acqua, l’azoto dell’ammoniaca e l’ossigeno dell’anidride carbonica e dell’acqua si combinano tra loro, i composti chimici che si formano e che la pianta moltiplica sono dei corpi dissimmetrici. La vita è dominata da attività dissimmetriche delle quali non si presentisce l’esistenza avvolgente e cosmica. Ugualmente presumo che tutte le specie viventi siano

primordialmente state, nella loro struttura e nelle loro forme esteriori, funzioni della dissimetria cosmica. La vita è il germe e il germe è la vita. Ebbene, chi potrebbe dire quale sarà il divenire dei germi se si potesse sostituire in questi germi i principi immediati: albumina, cellulosa, ecc. con i loro inversi principi dissimetrici...?¹.

E con l'insieme dei lavori che successivamente ispirarono le ricerche di Le Bel e Van't Hoff², identificò la struttura di molti composti organici e, realizzandone la sintesi conoscitiva, gettò le basi della stereochimica.

In merito agli studi sulle fermentazioni, nominato professore alla Facoltà di Scienze di Lilla (1854), dove si tenevano ricerche di natura pratica, dette inizio agli studi sulle fermentazioni (1857-64) che proseguirà anche in seguito; ma Pasteur insieme sosteneva, insistendo coi suoi primi studenti, che «senza la teoria la pratica non è altro che un andazzo formato dall'abitudine e che solo la teoria può far sorgere e sviluppare lo spirito inventivo... applicazione».

Pasteur scoprì trattarsi di processi demolitivi dovuti in parte trascurabile ad un diretto intervento dell'ossigeno; più che a questa ossidazione, molto lenta e trascurabile la fermentazione era dovuta all'attività dei microrganismi; erano questi in definitiva, che presiedendo il ciclico ritorno degli elementi dallo stato organico a quello minerale³ assicuravano la perpetuazione della vita sulla superficie del globo.

E' rilevabile nella continuità dell'impegno il nesso organico di ricerca sulle fermentazioni, provato dalle successive ricerche condotte sull'alcool amilico ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{OH}$); costituito da una frazione attiva ed una inattiva alla luce polarizzata, l'alcool si offriva all'esame scientifico come la prima eccezione alla legge della correlazione tra l'emiedria ed il fenomeno rotatorio molecolare; deciso a studiarne la

¹ *La dissymetrie moléculaire. Conférences faites à la Société chimique de Paris 1883-1886*, Parigi, 1886.

² J.A. Le Bel (1847-1930) e J. Van't Hoff (1852-1911), sono considerati gli scopritori della teoria che mise in relazione l'attività ottica di un composto chimico con la struttura molecolare, ponendo le basi per una nuova branca della chimica, la stereochimica. Raggiunsero questi risultati nel 1874, lavorando in modo autonomo.

³ E' questa l'enunciazione del ciclo della materia in Natura e l'affermazione dell'intervento determinante del mondo microbico nei processi di mineralizzazione della sostanza organica. E' nato da qui, si può dire, lo studio - dimostratosi in seguito così fecondo di risultati - delle trasformazioni che subiscono, specie nel suolo, i diversi elementi variamente combinati. E' lo studio - con tutte le sue implicazioni, non solo a livello dottrinale, ma anche pratiche (pedogenetiche, agronomiche, industriali...) - dei cicli biochimici dell'azoto, del carbonio, dello zolfo e del ferro.

produzione, notò che i globuli che lo costituivano, già osservati negli studi precedenti, restavano sferici quando la fermentazione alcolica si svolgeva regolarmente, mentre divenivano sottili ed allungati, sopravvenendo la fermentazione lattica, al manifestarsi delle alterazioni, così temute dagli industriali del settore.

Dopo tre anni a Lilla nel 1857 passò alla Scuola Normale Superiore con l'incarico di amministratore e vice direttore degli studi scientifici; qui organizzò un laboratorio a sue spese in un angolo del solaio e continuò gli studi sulla fermentazione fino al 1864. La sua prima "*Memoria sulla fermentazione lattica*" è datata 1857; la seconda, relativa alla *fermentazione alcolica*, è del 1860.

Nel 1858 era nata Marie-Louise, ma l'anno successivo, nel settembre, subì la dolorosa scomparsa di Jeanne.

Nel 1861 dette compimento agli studi sulla vita anaerobica, confutando la tesi della generazione spontanea dei microbi, come già aveva osservato lo Spallanzani e per questa scoperta l'Accademia delle Scienze gli assegnò il Premio Jecker motivandolo "per un insieme di ricerche la maggior parte contribuenti al progresso della chimica organica".

La Memoria relativa agli studi sulla generazione spontanea, presentata all'Accademia delle Scienze il 3 Giugno 1861, gli fruttò l'anno successivo, il Premio Alhumbert.

Pasteur affermava che tutti i processi di decomposizione trovavano la loro principale causa

... negli esseri organizzati microscopici aventi speciali proprietà di dissociazione delle sostanze organiche complesse o di combustione lenta e di fissazione dell'ossigeno⁴.

Egli dovette lottare a lungo prima che la sua teoria fosse accettata; e combatté i contrasti dei numerosi oppositori che sostenevano che la vita si originasse da sé (autogenesi), senza l'ausilio d'altri organismi viventi. Sappiamo però che lo stesso Pasteur nel suo intimo sempre sperò che si potesse arrivare a generare la vita da sostanze inorganiche.

⁴ Lettera di Louis Pasteur indirizzata al Ministro della Pubblica Istruzione nell'Aprile del 1862.

Il complesso dei lavori di Pasteur sulla fermentazione e generazione spontanea fornì le basi per lo sviluppo della microbiologia come scienza.

Il 1863 fu allietato dalla nascita della figlia Camille e dalla titolarità di una Cattedra di Geologia, Fisica e Chimica nella Scuola di Belle Arti.

Sulla base di una Memoria (1864) conclusiva sulla fermentazione acetica, seguita da una lezione sull'aceto nel 1867 ad Orleans, poté pubblicare gli *“Studi sull'aceto, la sua fabbricazione, le sue malattie e i mezzi per prevenirle”*, e avviare così le ricerche sulle malattie del vino, già comunicata nel 1859; vi si dedicò a pieno ritmo a partire dall'autunno del 1863 e concluse a seguito di queste nuove ricerche che le alterazioni dei vini erano dovute a produzioni microscopiche dei fermenti. L'insieme di queste ricerche fu presentato nel 1866 nel celebre titolo: *“Studi sul vino. Sue malattie e cause che le provocano. Nuovi procedimenti per conservarlo ed invecchiarlo”*.

La natura composita di queste ricerche turba solo apparentemente il filo logico dell'operato di Pasteur. Come lo studio sulle fermentazioni si riallaccia alle scoperte della dissimmetria molecolare, così queste, dovevano condurre allo studio sull'aceto e delle malattie dei vini; tutte propedeutiche, in un certo senso, alle ricerche sulle cause delle malattie contagiose degli animali superiori e dell'uomo, ricerche verso le quali si sentiva portato.

Tappa successiva del suo impegno fu l'interesse per le malattie del baco da seta, che si sviluppò ad Alais, nel sud della Francia, a partire dal 1865.

Questa malattia era caratterizzata, all'interno e all'esterno del baco, dalla comparsa di tacche aventi l'aspetto del pepe, da ciò il nome di mal delle petecchie o *pebrina*. Il baco così colpito, difficilmente superava la quarta muta. Simile alla pebrina, era un'altra malattia che si manifestava con la perdita dell'appetito (raggiunta la morte, il baco diveniva insolitamente flaccido).

Pasteur così facendo riuscì ad identificare due malattie differenti, ma pensò, almeno inizialmente, che le patologie traessero origine da turbe fisiologiche e non dalla presenza di agenti parassitari, ma nel caso della flaccidezza, ritrovò nell'intestino dei bachi ammalati un contenuto batterico superiore a quello normale dei bachi sani; le sue opere sulle malattie dei bachi da seta gli apparvero molto significative se, nelle critiche mosse al suo antagonista tedesco Koch, ne fece ampio riferimento.

Nello stesso anno, la sua vita fu segnata pesantemente dal lutto per la scomparsa del

padre e delle figlie Camille e Cecile; nel 1867, ottenne la nomina di professore di Chimica alla Sorbona, e l'anno successivo l'Università di Bonn lo proclamò dottore in Medicina.

Nel 1870, nel corso del conflitto con la Germania, già in parte subendo i colpi e i problemi legati alla paralisi, ritornò ad Arbois con la moglie e la figlia, mentre il figlio diciottenne decideva di arruolarsi.

Il 18 gennaio dell'anno seguente per protestare contro il bombardamento tedesco del Museo di Storia Naturale restituì a Bonn e alla Germania vittoriosa il diploma precedentemente ricevuto. Riprese, a partire dal 1871, per un quinquennio gli studi sulle fermentazioni e sulla birra; nel 1873, fu anche eletto membro dell'Accademia di Medicina e nel 1874, fu costretto dalle sue precarie condizioni di salute a lasciare la Sorbona ma l'Assemblea Nazionale gli riconobbe una meritoria pensione vitalizia. Gli studi sulle generazioni spontanee delle malattie del vino, della birra e del baco da seta lo indirizzarono verso lo studio delle malattie infettive; nel 1877 pubblicò il primo studio sul carbonchio, cui seguirono quelli sul vibrione settico e sul colera dei polli.

Saranno gli studi sul colera dei polli a indirizzarlo alla scoperta dell'immunizzazione per mezzo delle colture attenuate. L'insieme delle ricerche e degli studi sulla setticemia e la febbre puerperale, gli consentirono di formulare la sua nota "*Teoria dei germi*", ufficialmente espressa in note datate 22 gennaio e 19 febbraio 1878, e "*il concetto di virus e di vaccino*" 1881.

Pasteur fu il primo a riunire in un'unica concezione tutti gli aspetti della vita microbica inerenti la fermentazione, la putrefazione ed il contagio; appariva però difficile, ai medici del tempo, accettare l'idea che esseri microscopici come i batteri, potessero essere causa patogenetica dell'uomo e degli animali.

Una volta dimostrata che la fermentazione era un atto correlato alla vita dei microrganismi, non potevano sussistere dubbi sull'origine ugualmente microbica delle malattie contagiose. Ormai Pasteur, forte anche dei primi risultati relativi ad altre affezioni (setticemia, foruncolosi ecc.), poté formulare la sua teoria dei germi, il 29 aprile 1876 che, precedute da due interventi in discussioni tenute all'Accademia di Medicina, pubblicò in collaborazione con Jules Joubert e Charles Chamberland, *La Teoria dei germi*, e conteneva anche le sue applicazioni alla medicina ed alla chirurgia; proseguivano anche gli studi sul carbonchio, effettuò anche quelli sul colera dei polli e sull'erisipela dei suini.

Affermato con questi studi l'immenso valore scientifico della terapia immunitaria, le ricerche di Pasteur sulle malattie contagiose si concentrarono sui problemi conseguenti alla scoperta e ai suoi sviluppi risolutivi; se rimaneva tuttavia ancora in che modo le malattie contagiose si trasmettessero da un individuo all'altro e il motivo per cui l'epidemia esplodeva imprevedibilmente ed allo stesso modo scompariva, certo è che Pasteur fu anche pioniere di ciò che oggi è chiamata "lotta biologica", perché riteneva di poter utilizzare la sua scoperta anche contro le malattie delle piante, nella produzione intensiva.

La teoria microbica delle malattie ha apportato numerosi benefici per le specie viventi, consentendo con la vaccinazione, di acquisire l'immunità indispensabile per la sopravvivenza, evidenziando l'influenza del mezzo, cioè dell'ambiente, nel determinismo del fenomeno epidemiologico e sostenendo con forza la necessità della nuova idea di igiene e di profilassi.

Il 19 ottobre del 1879, Pasteur fu colpito da apoplezia che lo portò ad una lenta convalescenza e ripresa nella Villa Vicentina di Trieste.

Fu eletto membro dell'Accademia delle Scienze l'8 dicembre del 1881. Seguirono altri riconoscimenti ed onori, per le scoperte fatte, non ultimo, quello che amici ed ammiratori gli consegnarono, per mano del suo vecchio maestro G. B. Dumas per le scoperte fatte (1882).

La comunità di Dôle, l'11 luglio 1883, volle una lapide commemorativa sulla sua casa natale. Nel 1885, (26/27 ottobre) giunse anche la scoperta delle basi della profilassi antirabbica cui seguirono le comunicazioni sotto il titolo "*Metodo per prevenire la rabbia dopo la morsicatura*" all'Accademia delle Scienze e della Medicina.

Pasteur fu un estimatore convinto dell'opera di E. Jenner (1749-1823) e quando, dopo i suoi grandi successi, ebbe occasione di presentarsi al *VII Congresso Internazionale di Medicina* tenutosi a Londra nel 1881, propose i termini "vaccino" e "vaccinazione" in omaggio disse "al merito e agli immensi servizi resi da uno dei più grandi uomini dell'Inghilterra: il vostro Jenner"⁵.

Diversi autori nello spiegare il motivo per cui Pasteur avesse studiato la rabbia hanno parlato di una *scelta romantica*, dando eccessivo peso ad un episodio accadutogli

⁵ E' opportuno ricordare che l'idea della vaccinazione era già sorta in altre menti. Eusebio Valli, professore a Pisa, pensò, ad esempio, per molto tempo alla possibilità di vaccinare contro la peste e la febbre gialla e sperimentando nel campo morì all'Avana nel 1816.

nell'esperienza giovanile: durante la permanenza ad Arbois avrebbe assistito con orrore alla cauterizzazione delle gravissime ferite riportate da contadini, attaccati da lupi portatori di rabbia e avrebbe perciò maturato la scelta di studiare la malattia.

Di fatto il problema era assai più complesso perché di questa malattia non era noto l'agente eziologico; si sapeva che si trasmetteva dall'animale all'uomo attraverso la morsicatura, e che l'agente infettante si trovava nella saliva e nel tessuto nervoso degli animali morti. Pasteur non mancò di cercarne il microbo responsabile e, in un primo momento, credette di averlo trovato. Si trattava di un bastoncino corto, strozzato a metà e avvolto da uno strato mucoso, ma senza saperlo, aveva isolato il pneumococco, su un bambino morto di rabbia, tipico esempio di serendipità, si direbbe oggi.

L'idea decisiva, sul microbo responsabile e sul metodo di vaccinazione dalla rabbia, gli fu offerta dalla vista di un pallone entro il quale Roux, suo assistente, aveva conservato un midollo spinale infetto: preparò così analoghi palloni, dove conservò in area secca e sterile il midollo spinale di conigli morti a seguito dell'inoculazione del virus fissato.

Osservò che, trascorsi quindici giorni, questo midollo spinale diveniva quasi avirulento. Il metodo di vaccinazione consistette nell'inoculare al cane emulsioni di midollo sempre meno attenuato, fino a quello fresco fortemente virulento e il cane si dimostrò protetto contro la forma più attiva del virus non contraendo la rabbia; le esperienze eseguite su cani fatti mordere da cani rabbiosi e, dopo morsicatura, trattati con vaccino, dettero risultati soddisfacenti.

Durante la sperimentazione avvenne un episodio spiacevole: lo scontro tra Pasteur ed il suo assistente, Roux, dovuto al fatto che lo scienziato francese, imitò il metodo d'attenuazione della rabbia e le apparecchiature utilizzate dal suo assistente, senza la previa autorizzazione dello stesso. Roux si astenne dall'incontrare il maestro per circa un anno, e gli studi sulla rabbia furono temporaneamente abbandonati.

Lascia molto perplessi l'atteggiamento assunto da Pasteur che non riconobbe il ruolo *basilare* del fidato assistente, alimentando ancor di più la fama di *scienziato solitario* attribuitagli da numerosi studiosi, ma nell'agosto del 1884, a Copenaghen per il *Congresso Internazionale di Medicina*, espose il suo metodo d'attenuazione utilizzato nella terapia della rabbia.

Il vaccino antirabbico verrà per la prima volta inoculato sperimentalmente sull'uomo,

il 6 luglio 1885, ad un bambino alsaziano dell'età di nove anni, Joseph Meister, che conserverà imperitura gratitudine a Pasteur⁶.

In quel frangente Pasteur accelerò i tempi nel passaggio sperimentale dall'animale all'uomo, perché certamente non era ancora stato effettuato un numero sufficientemente ampio di esperimenti; ci si chiede ancora quale fosse il motivo di quella fretta, se non fosse da imputare alla sua impulsività, o alla smania di precedere ancora una volta gli altri scienziati.

Ma ci si può porre anche un'altra domanda, stavolta di natura etica: e' stato corretto iniziare una terapia così innovativa sull'uomo senza avere la sicurezza sperimentale dei risultati ottenuti?

A questa domanda è lo stesso Pasteur a dare una risposta:

Scientificamente si, moralmente no.

Nonostante le lacune del suo metodo, Pasteur lanciò una sfida al mondo accademico e medico-veterinario, chiedendo al Ministro dell'Istruzione Pubblica l'istituzione di una commissione atta a verificare i risultati sperimentali. Va ricordato in questo contesto, un episodio emblematico, il caso Rouyer; l'8 ottobre del 1886, un ragazzo fu morso da un cane randagio, Pasteur gli diagnosticò la rabbia, e procedette con le nuove inoculazioni, ma il paziente nonostante le cure, morì. Questo caso mortale fu deliberatamente nascosto da Pasteur, da Roux e dalle autorità medico-legali, con la motivazione che la diffusione di quella notizia avrebbe ritardato notevolmente lo sviluppo della nuova scienza medica, la quale ebbe, fra i suoi precursori: Gualtier (...), professore all'Ecole vétérinaire de Lyon, la cui opera trova compimento nel mito pasteuriano.

Leggendo il carteggio dei *Cahiers de laboratoire* si capisce quanto sia irta di ostacoli il lavoro dei pionieri nella ricerca scientifica di un vaccino e quante le incertezze e i dubbi che attraversavano la coscienza dello scienziato⁷.

Il caso Rouyer pone una serie di problemi etici che devono essere giudicati, oggi, con severità, anche se si tiene conto dei mutamenti nella mentalità e nella sensibilità

⁶ Meister, dopo la sconfitta della Francia nella 2^a guerra mondiale, che ancora lavora alla guardiola della portineria dell'Istituto Pasteur, alla vista dell'arrivo dei militari tedeschi si suicidò: si dice che da quel gesto sia nata la leggenda che Meister abbia, per estremo orgoglio, preferito morire piuttosto che aprire agli invasori tedeschi la cripta dove Pasteur era stato sepolto.

⁷ A tal proposito è bene ricordare gli studiosi Antonio Cadeddu e Gerald L. Geison che rispettivamente con i lavori *Dal Mito alla Storia. Biologia e medicina in Pasteur*, Franco Angeli, Milano, 1991; *The private science of Louis Pasteur*, Princeton University, New Jersey, 1995, hanno rivisitato la vulgata storiografica.

dell'epoca. In effetti i rischi di deriva etica sono maggiori in Pasteur, rispetto ad altri medici e sperimentatori, proprio perché egli, coraggiosamente, si pose rapidamente sulla via dell'applicazione di teorie e di tecniche dai contorni ancora non molto precisi, e quindi rischiose, fosse troppo confidando nelle sue idee ed incapace di rinviare ad un futuro più lontano le applicazioni pratiche che avrebbero potuto salvare molte vite. Così venne raccontato il caso dagli estimatori e dai detrattori di Pasteur

Poteva il metodo essere valido anche per l'uomo? Non è difficile intuire il tormento di Pasteur di fronte a questo problema. E' normale ad un tempo il suo terrore all'idea di dover inoculare nell'uomo il virus rabbico, nonostante fosse attenuato.

...E' la storia di sempre, in ogni epoca, si sono avuti e si hanno uomini e uomini. Da una parte si ha un uomo che nel tentativo, anche se giudicato vano, di salvare una vita non esita a porre in gioco la sua reputazione e a far correre il rischio della sfiducia ad un metodo, pur valido, a lui costato anni di sacrificio e di lavoro; dall'altro ecco uomini diversi, pronti a speculare contro di lui, senza vergogna su un episodio che, nel caso, avrebbe dovuto muovere pietà, ammirazione e conforto.

e per l'opposto

Koch fece delle critiche agli studi di Pasteur sull'eziologia della rabbia, affermando che lo stesso, indicando la rabbia come una nuova malattia, non chiarì se avesse esplorato gli organi del paziente e soprattutto se avesse ricercato microscopicamente nelle ghiandole sublinguali la presenza di uno specifico microbo⁸.

⁸L. Pasteur, La vaccination charbonneuse. Réponse a un Mémoire de M. Koch, *Revue scientifique*, n. 20 gennaio 1883, 3^a serie, V, Baillièrè & C., Paris 1883, p. 419.

Il 14 novembre del 1888, alla presenza del Presidente della Terza Repubblica, fu inaugurato l'Istituto Pasteur, costruito con fondi provenienti da sottoscrizioni pubbliche. Pasteur morì il 28 settembre 1895 e venne tumulato nell'Istituto a lui intitolato.

I. 2 Gli studi sul carbonchio e l'esperimento di Pouilly-le-Fort nella vulgata storiografica

Tre comunicazioni sono state fatte da Pasteur e dai suoi collaboratori Chamberland e Roux sulla vaccinazione carbonchiosa all'Accademia delle Scienze di Parigi, ma in due sedute. La prima *Dell'attenuazione dei virus e del loro ritorno alla virulenza* è stata fatta nella seduta dell'8 febbraio 1877; la seconda, *Della possibilità di rendere le pecore refrattarie al carbonchio col metodo delle inoculazioni preventive* in quella del 21 marzo; la terza, *Il vaccino del carbonchio* nella stessa seduta. Oltre a queste comunicazioni nella seduta del 13 e 14 giugno comunicò all'Accademia delle Scienze prima ed all'Accademia di Medicina dopo, il risultato delle esperienze fatte a Pouilly-le-Fort sulla vaccinazione carbonchiosa, intraprese per incarico della Società di Agricoltura di Melun.

Ma Pasteur prima individuò il metodo per l'attenuazione del "colera dei polli"; infatti, assoggettato il virus, dopo il suo completo sviluppo in un liquido di coltura appropriato, ad una prolungata azione dell'aria, aveva sperimentato che il microbo perdeva la sua virulenza in relazione al tempo dell'esposizione; poi diventava compatibile con la vita e non aveva altro effetto che quello di una malattia benigna, alla quale seguiva l'immunità.

L'inoculazione del virus e gli effetti positivi che ne derivavano fecero nascere in Pasteur la speranza che si potesse estenderlo ad altri virus generalizzando il metodo di attenuazione. Pensò cioè, di formare da virus attivi di facile coltura, nell'organismo dell'uomo o degli animali virus-vaccini di sviluppo limitato, capaci di prevenire gli effetti mortali dei primi.

Dal microbo del colera dei polli passò perciò allo studio del carbonchio, allora letale malattia per bovini e ovini nonché per l'uomo. Egli notò ben presto che i due virus erano diversi e i batteri del carbonchio-antrace dopo 24-48 ore si trasformavano in spore e in via sperimentale, osservò l'inefficacia dell'esposizione delle stesse all'aria atmosferica; esse resistevano alle azioni più efficaci di distruzione; la loro virulenza si conservava nei liquidi di coltura per dei mesi ed anche per molti anni, come dimostravano le esperienze di laboratorio e perfino le terre raccolte dalle fosse nelle quali erano stati sotterrati gli animali carbonchiosi. Bisognava dunque ricorrere ad un

altro processo di attenuazione, che risolvesse il grande problema e Pasteur configurò in un nuovo provvedimento.

Poiché la persistenza della virulenza carbonchiosa nei liquidi di coltura esposti all'azione dell'aria, dipendeva dalle spore, generate rapidamente in questi liquidi, ipotizzò di ottenerne mantenendole e sotto questo stato esporle all'azione modificatrice dell'ossigeno dell'aria.

Gli esperimenti successivi dimostrarono la correttezza del procedimento: per mezzo del calore si perveniva alla formazione delle spore; il batterio non si coltivava più alla temperatura di 45° ma, nel brodo neutro di pollo, tra i 42° ed i 43°. La sua coltura in questo brodo risulta facile e abbondante, ma le spore non vi si formano neanche prolungando ad oltranza il tempo. Si ottengono così batteri non suscettibili di produrre dei germi.

Questi batteri non potrebbero essere modificati, come il micelio del colera dei polli, per l'azione dell'ossigeno dell'aria? L'esperimento rispose affermativamente: l'attività virulenta del microbo del carbonchio, allo stato di micelio, può essere modificata come quella del microbo del colera dei polli, e molto più rapidamente perchè in quattro, sei settimane i batteri sotto forma di micelio perdono la loro virulenza, cioè la loro facoltà di riprodursi nell'organismo delle cavie, del coniglio e della pecora, tre specie di animali più soggette a contrarre il carbonchio.

Così, per mezzo di un semplice artificio di coltura si trovavano in possesso di un mezzo capace di fare col virus carbonchioso un virus attenuato, cioè un virus vaccinale, in grazia del quale si può inoculare alle pecore, alle vacche, ecc, una febbre carbonchiosa benigna, che non li fa morire, ma li preserva invece ulteriormente dalla mortale malattia, come prova il successo sulle pecore.

A questo proposito si ricorda che fin dal luglio dell'anno 1880 Toussaint, della Scuola Veterinaria di Tolosa, aveva comunicato alla Accademia di Medicina di Parigi la Nota *Dell'immunità per il carbonchio acquisita in seguito ad inoculazione preventiva*. Il suo metodo consisteva nell'inoculare le pecore, sia col sangue carbonchioso defibrinato e filtrato attraverso parecchi fogli di carta raddoppiati, sia con lo stesso sangue portato alla temperatura di 55° per dieci minuti. Secondo Toussaint, gli animali così trattati potevano ulteriormente sopportare, senza morire, le inoculazioni di sangue

carbonchioso.

Nella seconda sua Comunicazione fatta il 21 marzo, Pasteur esaminò dettagliatamente il processo delle inoculazioni preventive di Toussaint, e ne ricavò che dall'esposizione dei fatti e dal risultato delle sue esperienze, le osservazioni di Toussaint non erano esatte; che alcuni risultati erano stati male interpretati, che la sua interpretazione scientifica dell'immunità carbonchiosa era stata, sotto molti riguardi, ricalcata su quella della vaccinazione del colera dei polli, già da Pasteur data sei mesi prima. Inoltre, secondo Pasteur, il processo di Toussaint non solo aveva determinato grandi perdite di animali, ma richiedeva una eccessiva disponibilità di sangue carbonchioso, il che costituiva un grave inconveniente.

Tuttavia se la soluzione scientifica del problema della trasformazione del virus carbonchioso in virus vaccinale era stata data da Pasteur, rimaneva ancora da allestire quella pratica, perché il virus costituito dal batterio allo stato di filamento o di micelio non era suscettibile di lunga conservazione.

Era dunque desiderabile, affinché l'inoculazione preventiva del carbonchio divenisse una misura pratica, che il virus attenuato si trovasse non nei batteri, troppo effimeri, ma nelle loro spore.

La questione che si presentava era quella di sapere se i batteri, attenuati dall'esposizione all'aria nei liquidi caldi di coltura in cui si erano sviluppati, avessero più che una valenza vaccinale e fossero in grado di recuperare la loro proprietà germinativa, cioè di trasformarsi in spore o germi.

Nel caso affermativo, altre questioni dovevano scaturire. I batteri nati da queste spore avrebbero recuperato tutta l'attività virulenta propria alla specie o sarebbero rimasti completamente neutri? Oppure la loro virulenza rimandava a quella dei batteri primitivi, originarii e non costituiva un carattere specifico, capace di trasmettersi nei corpuscoli successivi?

L'esperimento dimostrò esatta quest'ultima ipotesi: *Autant de bactériidies de virulences diverses, autant de germes dont chacun est prêt à reproduire la virulence dont il émane* (La quantità di batteri con virulenza diversa "equivale" ad altrettanti germi-spore dei quali ciascuno è predisposto a riprodurre la virulenza che gli è propria); tramite la coltura nel mondo dei microbi di specie con caratteri nuovi, si trasmettevano

ereditariamente con una notevole costanza. Ciascuna varietà di batterio, che si può ottenere a volontà, ha la proprietà di produrre, come il batterio normale, corpuscoli-germi inalterabili, resistenti a tutte le cause di distruzione che essi possono incontrare, e può inoltre dar vita, allorché si trova in un mezzo favorevole, a una successione di generazioni di batteri che posseggono le stesse proprietà, lo stesso grado di virulenza dei batteri da cui provengono; in tal modo il vaccino carbonchioso poteva essere conservato, per così dire, titolato e indefinitamente senza alterazione: era la soluzione pratica del problema della profilassi del carbonchio per inoculazione.

Dopo la lettura della terza comunicazione, il 21 marzo, molti membri dell'Accademia delle Scienze si mostrarono ancora increduli. Tuttavia la Società d'Agricoltura di Melun, dopo che ebbe preso conoscenza dei risultati ottenuti da Pasteur, lo sollecitò a ripetere pubblicamente le esperienze eseguite nel suo laboratorio. Pasteur accettò volentieri, e sottopose alla Società il programma delle procedure da eseguire. Il tentativo, forse, come lo stesso Pasteur, peccava di un ottimismo, che solo uno splendido risultato poteva scusare, ma egli contava sui dati ottenuti nelle esperienze precedenti del suo laboratorio; i risultati furono splendidi e soprattutto conformi alle previsioni fatte.

La Società d'Agricoltura mise perciò a sua disposizione cinquantanove pecore e due capre di età, di razza e di sesso diverso, e dieci vacche. Riguardo a queste ultime Pasteur aveva dichiarato che, non avendo per loro, esperienze numerose come per le pecore, poteva accadere che i risultati non fossero altrettanto manifesti; tuttavia accettò di sottoporre anche questi animali alla vaccinazione.

Le esperienze incominciarono il 5 maggio 1881, nel comune di Pouilly-le-Fort in una cascina appartenente al veterinario Rossignol di Melun.

S'inocularono, per mezzo di una siringa di Pravaz, due pecore, una capra e sei vacche, ciascun animale con cinque gocce di una coltura di virus carbonchioso attenuato; il 17 maggio furono inoculati di nuovo con un secondo virus carbonchioso egualmente attenuato, ma più virulento del precedente; infine, il 31 maggio quegli stessi animali furono inoculati col virus molto virulento, che doveva giudicare l'efficacia delle inoculazioni preventive del 5 e 17 maggio; separatamente si sottoposero alla medesima operazione altre due pecore, una capra e quattro vacche che non avevano subita alcuna

vaccinazione preventiva. Il virus molto virulento impiegato, rigenerato dei corpuscoli-germi del batterio, era stato conservato nel laboratorio di Pasteur fin dal 21 marzo 1877.

Allo scopo di rendere le esperienze più comparative, si inoculò alternativamente un animale vaccinato e un animale non vaccinato e si convenne con gli astanti di rivedere i 60 animali inoculati col virus molto virulento 48 ore dopo.

Il 2 giugno infatti, gli intervenuti si recarono sul luogo delle esperienze, e rimasero meravigliati dei risultati ottenuti. Le ventiquattro pecore, la capra e le sei vacche, che erano stati inoculati col virus attenuato, avevano tutte le apparenze della salute; mentre 21 pecore e la capra, che non erano stati vaccinati, eran già morti di carbonchio: altre due pecore non vaccinate morirono sotto gli occhi degli spettatori e l'ultimo dei ventiquattro alla sera; le vacche non vaccinate non erano morte, essendo meno soggette, rispetto alle pecore, a morire di carbonchio; tutte però, attorno al punto di inoculazione, dietro le spalle, presentavano edemi voluminosi, dei quali alcuni presero, nei giorni successivi, tali dimensioni da contenere parecchi litri di liquido; anche la temperatura degli animali subì un innalzamento di tre gradi.

Le vacche vaccinate invece non presentarono né elevazione di temperatura, né edema, né diminuzione d'appetito, ciò dimostrò che il successo degli esperimenti era per le vacche completo come per le pecore.

Il 3 giugno una delle pecore vaccinate morì. L'autopsia, fatta otto ore dopo la morte da due veterinari, dimostrò che la pecora era gravida, e che l'agnello morto nell'utero da 12-15 giorni era stato, secondo l'opinione di due veterinari, la causa della sua morte; dal verbale dell'autopsia però si rilevò che la pecora era sì morta in conseguenza di un tentativo di aborto mancato perché l'animale si trovava sotto l'azione della febbre dell'infezione carbonchiosa e il feto si trovò come macerato.

L'esame microscopico accurato del sangue prelevato dalle vene e dal cuore della pecora, fece rilevare appena uno o due bastoncini, provenienti senza alcun dubbio dall'inoculazione praticata tre giorni prima. L'assenza poi delle lesioni specifiche del carbonchio, provò che la morte dell'animale era stata causata unicamente dalle infezioni derivate dal feto, nell'utero ed anche negli involucri fetali.

A seguito di questi risultati, l'Accademia espresse unanime volontà affinché il Ministero d'Agricoltura comunicasse ufficialmente a tutti i Dipartimenti la notizia della

straordinaria scoperta.

Successivamente Pasteur vaccinò presso la Scuola Veterinaria d'Alfort complessivamente 300 pecore.

L'esperimento pubblico sul carbonchio catalizzò i mass-media, anche altri temi dibattuti oltre la vaccinazione, quali l'omeopatia e la vivisezione come fase finale delle sperimentazioni in vivo. Su quest'ultimo tema, ancora una volta, si tirò in ballo l'operato di Pasteur. "Il 18 aprile, il *Times* pubblicò una lettera indirizzata da Darwin al professore svedese Holmgren, in risposta alla richiesta di un'opinione sul diritto di condurre esperimenti su animali viventi per scopi scientifici- una questione oggi molto discussa in Svezia"⁹.

Darwin, pur affermando la sua assoluta contrarietà alla crudeltà nei confronti degli animali, espresse i suoi timori per una legge restrittiva che poteva nuocere al progresso della fisiologia:

Nessuno, a meno che ignori grossolanamente ciò che la scienza ha fatto per l'umanità, può nutrire alcun dubbio sui benefici incalcolabili che verrà col tempo dalla fisiologia, non solo dall'uomo, ma anche dai più piccoli animali. Guardate, per esempio, i risultati ottenuti da Pasteur modificando i germi delle più maligne malattie da cui, peraltro gli animali trarranno più sollievo dell'uomo¹⁰.

Una delle principali strategie argomentative impiegate dagli antivivisezionisti contro gli esperimenti animali, fu quella di tipo tecnico, dove si metteva in discussione la validità ed il contributo effettivo allo sviluppo di terapie migliori. La seconda motivazione era d'ordine morale.

La Cobbe, rappresentante di un'associazione per la tutela degli animali, si espresse così:

⁹ M. Bucchi, *Gli usi di un fatto scientifico. L'esperimento di Pasteur sul carbonchio nella stampa popolare*, in "Rassegna Italiana di Sociologia", a.XXXVIII, N°3, 1997, p. 430.

¹⁰ *Ibidem*.

Infine, signore, mi permetto di chiedere se i principi della filosofia evoluzionistica ci obbligano a credere che l'avanzamento della "nobile scienza della fisiologia" costituisca un obiettivo supremo dell'attività umana, al punto da non tenere in alcun conto la corrispondente ritirata e scomparsa dei sentimenti di compassione?¹¹.

La vivisezione fu uno degli argomenti centrali trattati nel corso del *Congresso Medico Internazionale*, tenutosi a Londra nell'agosto 1881. Per la stampa britannica fu un evento di grande rilievo, per la presenza di celebri scienziati tra i quali Darwin, Virchow e Pasteur. *Il Times*, nonostante avesse per lungo tempo considerato con una certa simpatia le motivazioni dei movimenti contro la vivisezione, in quell'occasione diede ampio spazio alle ragioni opposte, pubblicando e commentando positivamente il discorso di Virchow.

La stessa attenzione fu data alla risoluzione conclusiva del Congresso sul tema della vivisezione:

Questo congresso esprime la convinzione che gli esperimenti su animali vivi si siano dimostrati della massima utilità per la medicina e siano indispensabili per progredire ulteriormente; di conseguenza, pur deprecando l'infliggimento d'inutile dolore, è nostra opinione che, tanto nell'interesse dell'uomo quanto in quello degli animali, non sia desiderabile limitare persone competenti nell'esecuzione di questi esperimenti. Questa risoluzione fu accolta da un'ovazione, e fu dichiarata approvata senza un solo dissenso¹².

Gli antivivisezionisti comunque scelsero Pasteur come bersaglio preferito e pubblicarono regolarmente, sotto il titolo di "Necrologi di Pasteur" le liste degli animali morti durante gli esperimenti, definendo altresì il suo laboratorio l'"inferno degli animali". Un inaspettato appoggio per la campagna contro la pratica della vivisezione giunse dall'omeopatia, affermando che gli esperimenti su soggetti umani sani portavano

¹¹ *Ibid.*, p. 431.

¹² *Ibidem*.

a risultati di più facile interpretazione su quelli ottenuti con gli animali. Nonostante il riuscito esperimento di Pouilly-le-Fort, le resistenze alla pratica della vaccinazione non scomparvero nel breve periodo, in particolare in Inghilterra e negli Stati Uniti, l'organo ufficiale della *London Society for the Abolition of Compulsory Vaccination*, "The Vaccination Inquirer and Health Review", continuò a monitorare la stampa francese in cerca di notizie sui possibili fallimenti dei vaccini pasteuriani, cogliendo ogni opportunità per attaccarlo e per negare che i suoi risultati legittimassero quella pratica.

I movimenti antivaccinazione, antivivisezione e quello a sostegno dell'omeopatia, erano espressione di una lotta più vasta contro la crescente istituzionalizzazione, scientificizzazione e tecnicizzazione degli studi e della pratica in medicina, una lotta che propugnava igiene e moralità contro la sperimentazione animale e la teoria dei germi. Pasteur, per far accettare il suo lavoro, utilizzò con maestria la comunicazione pubblica, negoziando con settori non scientifici, quali ad esempio la società agricola, la definizione degli esperimenti. Quest'approccio permise allo stesso scienziato di mettere in secondo piano alcuni aspetti teorici ancora non perfettamente definiti, enfatizzando nello stesso tempo aspetti pratici come l'efficacia e l'economicità del suo metodo; Pasteur così riuscì a catturare ed orientare l'attenzione di settori diversi della ricerca entro una comune area di interessi scientifici e produttivi. L'esperimento di Pouilly-le-Fort fu cruciale per il consolidamento della pratica della vaccinazione ed il laboratorio di Pasteur oltre a molto ampliarsi fino a fargli assumere la dimensione di una fattoria, ed avvicinandolo al pubblico.

Pasteur incarnò in modo ideale il processo di riorganizzazione centrato sul laboratorio, come luogo privilegiato della ricerca e della pratica medica, ponendo altresì l'accento sull'importanza determinante della ricerca nella chimica e nella batteriologia. Il ricorso alla sollecitazione del pubblico fu importante anche perché fece interagire anche forze esterne alla comunità scientifica, idee popolari e pratiche alternative, quali l'omeopatia, le quali confermavano in vario modo il principio dell'immunizzazione contro il paradigma della morbosità spontanea. L'opinione pubblica venne utilizzata strumentalmente, anche questo va detto, in base cioè ai bisogni delle parti coinvolte, utilizzata ad *hoc* come fonte primaria d'autorità oppure respinta come giudice inaffidabile ed irresponsabile. Una operazione codesta che esplicitamente richiama ciò che appare molto più che un problema storiografico: la scienza non può come le culture

vivere per sé, in aree asettiche o pure ma con le “contaminazioni” del sociale e del confronto che vanno considerate non come eventualità devianti ma come il tessuto su cui la scienza stessa opera e lotta.

I. 3 Koch: biografia e studi medico-scientifici.

Heinrich Hermann Robert Koch nacque a Claustal, in Germania, l'undici dicembre 1843, da famiglia benestante; terzo figlio di dodici fratelli, dei quali undici sopravvissero fino all'età adulta. Attratto dall'ambiente naturale fin dalla più tenera età fu un entusiasta collezionista e classificatore di scarafaggi, farfalle, bruchi, piante, ma anche di minerali. Cominciò il ginnasio nel 1851 all'età di otto anni e lo si ricorda come uno studente diligente, con un'attitudine per la matematica e le scienze naturali; aveva invece poco interesse per le lingue classiche, studiò le lingue francese e l'inglese, ma con la prima non dimostrò mai molta dimestichezza come ho appena ricordato.

Nel 1862, Koch presentò la sua Tesi di maturità al ginnasio; però ancora ignorava in quale direzione dovessero proseguire i suoi studi, mentre i suoi fratelli più grandi, Adolf e Wilhelm emigravano negli Stati Uniti dedicandosi agli affari; il padre avrebbe preferito che egli seguisse la loro scelta.

Si iscrisse all'Università, optando, dopo molte esitazioni, per la laurea (e la carriera) in medicina ed entrò *all'Università di Gottingen*, la più famosa nel Niedersachsen. Fu una scelta fortunata perché vi insegnavano professori come Friedrich Wohler (1808-1885), il chimico che sintetizzò l'urea, Friedrich Gauss (1777-1855) insigne matematico, Jacob Henle (1809-1885) celebre patologo e infine Rudolf Hermann Lotze (1817-1881) medico e filosofo, accanito oppositore del vitalismo in biologia. Durante il corso degli studi universitari, Koch vinse un premio di trenta ducati per uno studio anatomico sulla disposizione dei nervi nei gangli dell'utero, premio che utilizzò per un viaggio a Hannover dove seguì il *49° Congresso del Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Arzte*. Questo viaggio gli offrì la possibilità, oltre a seguirne le lezioni, anche di conoscere il noto medico tedesco Rudolf Virchow (1821-1902); affrontò (1865) poi uno studio sperimentale, sotto la direzione del fisiologo Meissner, sulla formazione dell'acido succinico negli esseri umani, scoprendo la correlazione tra la formazione d'acido e l'assunzione di alcuni ingredienti nella dieta alimentare; studio che venne poi pubblicato nello *Zeitschrift Fur Rationelle Medizin*.

Durante la frequenza universitaria seguì corsi pratici per complessivi quattro anni ed effettuò numerosi servizi clinici presso l'ospedale. All'età di 23 anni conseguì il suo Fakultas Examen, nello stesso mese superò l'Examen Rigorosum, con un'esposizione

orale del suo lavoro sull'acido succinico.

Conseguita la laurea, Koch si trasferì a Berlino per seguire le lezioni di Virchow sui batteri; fu in quella occasione che visitò il grande Ospedale della *Charitè*, con una capienza di quattromila degenti, che sarebbe stato lo scenario di alcuni dei suoi futuri successi. Nel marzo 1866 superò l'esame medico statale ad Hannover abilitandosi così alla pratica ospedaliera, fu assunto come assistente medico all'Hamburg General Hospital, dove anche si occupò di ricerca scientifica eseguendo analisi di materiale patologico e non trascurando lo studio di malattie infettive come il colera, di grande utilità per i suoi successivi lavori in Egitto e India. Si dimise però dall'incarico poco dopo a causa del basso reddito.

Nell'ottobre del 1866, gli fu offerto un posto come assistente in un istituto per l'educazione e la cura di bambini handicappati, nel piccolo villaggio di Langenhagen. Koch qui poté fare esperienza diventando un medico apprezzato dall'intero paese.

Koch, deciso ad ampliare i suoi orizzonti non soltanto nei doveri istituzionali, si dedicò a studi di microscopia in ambito medico ma anche in quello naturalistico. Nella campagna dove viveva infatti c'erano stagni e paludi ed egli trascorse molto del suo tempo libero esaminando piante, acqua, alghe e protozoi; sua moglie fu per lui un valido e costante aiuto.

Questa vita così fruttuosa e ordinata però durò solo un biennio; sopraggiunti problemi economici nell'istituto dove lavorava lo costrinsero a cambiare lavoro.

Nel 1868, si trasferì a Braetz, dove si accorse però di non poter competere con il medico locale, affermato e ben accetto ai pazienti; si trasferì, quindi, a Niemegk, lasciando sua moglie a Clausthal dove nel 1868 nacque la figlia Gertrud.

Nonostante lavorasse isolato dagli altri scienziati Koch fece ragguardevoli scoperte; l'importante carica però non gli consentiva di seguire adeguatamente le ricerche intraprese ma, conosciuto il progetto per la fondazione di un Istituto d'Igiene, Koch ne condivise immediatamente ed entusiasticamente il progetto. Cohn ed i suoi colleghi della Facoltà proposero che Koch fosse nominato *The Gerichtliche Stadtphysikus* per la città di Breslau; Koch ben presto si accorse che il suo lavoro ancora non lo soddisfaceva e decise di trasferirsi nuovamente a Wollstein, che lo accolse con grande affetto e stima.

Nel luglio del 1880, è nuovamente a Berlino, in un nuovo laboratorio appena istituito per la ricerca in batteriologia: l'*Ufficio Imperiale per la Sanità*; il primo direttore fu

Henrich Struck, ex medico personale di Bismarck. Struck si impegnò per assumerlo e Koch non ebbe bisogno di pensarci molto, infatti telegrafò: “Sarò a vostra disposizione a Berlino il 10 luglio”. L’arrivo a Berlino gli assicurò un avanzamento di carriera e gli permise di lavorare in un regolare istituto di ricerca, uno dei maggiori centri d’attività scientifica e culturale con assistenti, collaboratori e colleghi, con i quali continuò a lavorare con la solita alacrità e senza alcuna difficoltà ad integrarsi. con i suoi colleghi. Presto ebbe un piccolo gruppo di collaboratori entusiasti e motivati, che lo elessero a leader, ottenne la conduzione del terzo laboratorio, fondato per la ricerca batteriologica e presto gli assegnarono i primi assistenti personali: George Gaffky (1850-1918), e Friedrich Loeffler (1852-1915), che in seguito divennero due figure importanti nella ricerca batteriologica. Loeffler, che dette importanti contributi alla ricerca scientifica, viene ricordato per la scoperta dell’agente causale della difterite; Gaffky che era stato assistente medico nel Corpo Medico Reale Prussiano fu nominato Kaiserliche Gesundheitsamt (Ufficiale Imperiale sulla Salute), specificatamente per affiancare Koch¹; così i tre iniziarono a lavorare in una piccola stanza al piano superiore del numero 57 della Luisenstrasse.

La sua posizione prestigiosa e ufficiale gli permise d’avere più spazio e tempo per la ricerca, interagendo nello stesso tempo con colleghi intelligenti e capaci; nel 1881, uscì il primo volume dei *Rapporti dell’Ufficio Imperiale della Sanità*, che conteneva un articolo importante descrivente *la tecnica in vitro* per isolare le colture pure, seguito da un articolo sulla *disinfezione*, che tracciava la strada per il futuro lavoro. Si impegnò anche in un’importante lavoro sul carbonchio, indirizzando un duro attacco a Pasteur; nella critica a Pasteur fu seguito da Loeffler, Gaffky, Wolffhugel, Huppe e Sell. Nel 1882, fu promosso Ufficiale Medico Superiore e rese pubblico il lavoro sul bacillo tubercolare, riscuotendo un ampio consenso da parte della comunità scientifica.

Koch vivacemente si confrontò a Ginevra col Pasteur nel settembre del 1882; nel dicembre dello stesso anno Pasteur indirizzò la sua risposta con una lettera al suo presunto “antagonista”.

Koch annunciò l’anno successivo i Postulati che ancora oggi stanno alla base della ricerca scientifica.

¹ Loeffler lavorò all’Ufficio Imperiale per la Sanità per cinque anni sotto la direzione di Koch. Nel 1888 fu nominato professore d’Igiene all’Università di Greifswald e nel 1913 divenne il terzo direttore dell’Istituto Robert Koch per le malattie infettive a Berlino.

Nell'agosto 1883, si recò in Egitto per studiare il colera, su commissione del Governo tedesco; nel novembre dello stesso anno partì poi per l'India. Le sue ricerche portarono ad isolare il vibrione del colera in una coltura pura, nel febbraio del 1884; a maggio tornò a Berlino, ricevendo i riconoscimenti e le dovute onorificenze dal Governo tedesco. Nel 1885, fu nominato professore d'Igiene all'Università di Berlino e Direttore dell'Istituto d'Igiene.

Nell'ambito del suo ruolo professionale si recò a Roma per partecipare al *Congresso Sanitario Internazionale*; scopo del Congresso era quello di sviluppare protocolli per lo sviluppo delle procedure di quarantena, di perfezionare altre procedure per il controllo delle malattie infettive ed infine di rendere obbligatoria la vaccinazione per il vaiolo.

A Berlino, Koch continuò a lavorare, preparando le lezioni e aggiornando corsi per gli studenti che mai aveva effettuato prima; adempiendo ai suoi compiti professionali come professore, offrì tre corsi separati:

1. Un corso d'igiene, tre volte alla settimana, per un selezionato gruppo di studenti.
2. Un corso di laboratorio per gli stessi studenti.
3. Una serie di lezioni, pubbliche e settimanali, sui metodi di ricerca batteriologica.

Koch nelle sue prime lezioni, dal 3/11/1885, illustrò un quadro storico dell'igiene e ne prospettò il futuro. Le sue lezioni all'Università immediatamente popolari furono seguite da studenti provenienti da tutte le parti del mondo. Sebbene egli non fosse un trascinate oratore, ebbe reputazione di parlatore diligente: esponeva in maniera chiara i concetti e le sue lezioni, a detta di molti allievi, non furono mai noiose. Alla teoria seguiva i suoi studenti in viaggi e visite guidate, per rendere più proficuo l'apprendimento; in questo modo con lezioni ed esempi pratici, stimolò fortemente collaboratori ed ascoltatori a diventare degli eccellenti igienisti.

Nel periodo in cui si consolidò la posizione di Koch come leader nella batteriologia, s'intensificarono i lavori di ricerca soprattutto sulle malattie infettive, cui contribuì egli stesso insieme ai suoi amici, fra cui Carl Flugge di Gottingen, con un progetto per la nascita di un nuovo giornale, *Zeitschrift fur Hygiene*.

L'informazione precedente sull'igiene sperimentale era avvenuta in modo sommario e poco approfondito, il giornale di Koch e soci fu redatto con l'intenzione di colmare

questa lacuna, fondando una pubblicazione che conteneva dettagliati protocolli sperimentali, tabelle e varie illustrazioni; la testata fungeva anche da mezzo di diffusione per rendere accessibili le ricerche del laboratorio di Koch.

Nel 1890, lo scienziato riprese le ricerche sulla tubercolosi, sino ad annunciare il 4 agosto di averne trovato la cura. In ottobre lasciò l'incarico di professore per dedicare più tempo alle ricerche; grazie a queste poté disporre di un nuovo Istituto per le malattie infettive, che fu inaugurato nel mese di luglio.

Nel 1892, l'epidemia di colera ad Amburgo consentì a Koch di dimostrare l'importanza della depurazione delle acque per la profilassi di questa malattia e nel 1902, le sue ricerche sulla febbre tifoide in fase di sperimentazione portarono alla scoperta dell'agente causale negli uomini; quattro anni dopo condusse numerose ricerche in Africa, incentrate sullo studio delle malattie del bestiame, su commissione dei governi inglese e tedesco e in Rhodesia per studiare la peste bovina.

Koch si ritirò ufficialmente da compiti governativi nel 1904, per lavorare intensamente in Africa sulle malattie tropicali.

Nel 1905, gli fu conferito il Premio Nobel.

Nel 1906, tornò in Africa per studiare la malattia del sonno.

In settembre si recò a Washington per il *Congresso Internazionale sulla Tubercolosi*.

Tre anni dopo si ammalò e morì il 27-05-1910, a Baden-Baden all'età di 67 anni.

La *Teoria dei germi* e i Postulati fornirono le basi essenziali per lo studio delle malattie infettive sugli esseri umani, animali e piante; essi, oggi, sono applicati nel campo più vasto dell'ecologia microbica, di cui la microbiologia medica è una branca.

I postulati di Koch consistono in una serie di procedure per identificare il microorganismo, agente causale di una malattia infettiva.

Il rispetto dei Postulati è necessario per dimostrare la natura parassitaria di una malattia:

- Il microorganismo deve mostrare di essere costantemente presente nella sua forma caratteristica e nel tessuto malato.
- Il microorganismo, che dai suoi comportamenti visibili è responsabile della malattia, deve essere isolato e cresciuto in una coltura pura.
- la coltura pura deve mostrare di indurre la malattia in maniera sperimentale.

I postulati furono attribuiti a Koch dalla stampa critica e specialistica anche se, sorprendentemente, il loro enunciato nella forma finale apparve non in un suo scritto ma in un elaborato di Loeffler sulla difterite, datato dicembre 1883.

Ecco altri importanti contributi apportati da Koch:

a) La tecnica in vitro per ottenere delle colture pure non fu solo il fondamento della ricerca batteriologica, ma fornisce il mezzo necessario per gli studi sulla genetica dei batteri; ancora oggi alla base degli studi dei batteri nei laboratori;

b) perfezionò le tecniche necessarie per osservare i batteri presenti nei tessuti malati, al microscopio, che resta strumento fondamentale per la indagine delle patologie;

c) Koch scattò il primo fotogramma di un batterio, introducendo l'immagine fotografica come mezzo e metodo di studio nella comunità dei ricercatori microbiologi;

d) lavorò sul ciclo di vita del bacillo carbonchioso, mostrando l'importanza delle endospore, correlando questo lavoro all'effettivo controllo della malattia. Il lavoro di Koch sul carbonchio fornì la descrizione del completo ciclo di vita della malattia infettiva;

e) il contributo che gli diede maggior fama fu la scoperta del pneumococco della tubercolosi, che confermò (senza dubbio) la validità della teoria dei germi nelle malattie infettive; isolando il batterio del colera, ottenne dai contemporanei riconoscimenti di pari importanza alla individuazione della tubercolina;

f) perfezionò le procedure essenziali e la metodologia per la disinfezione e sterilizzazione, introducendo misure mirate alla tutela della salute pubblica.

g) scoprì il fenomeno della sensibilità alla tubercolina, fondamentale per la disciplina dell'immunologia cellulare e la diagnosi della Tbc;

h) Koch mostrò attraverso accurati studi epidemiologici l'importanza della depurazione delle acque nel controllo del colera, molto favorendo l'introduzione di metodi di depurazione dell'acqua nelle forniture idriche urbane, salvando numerose vite umane;

i) Stabilizzò il concetto che la salute individuale e collettiva dipendeva da microorganismi vettori di malattie infettive;

j) Nell'informazione scientifica preparò numerose conferenze nazionali ed

internazionali sulla salute pubblica, avendo un ruolo attivo nella codificazione di regolamenti per il controllo delle malattie infettive;

k) fu il fondatore della scuola di batteriologia del XIX secolo;

l) Il lavoro di Koch sull'eziologia delle infezioni da ferita, non solo confermò quello di Lister su base scientifica, ma fornì importanti nozioni sull'intera questione dei batteri in ambienti naturali.

Negli ultimi anni della sua vita, Koch fornì anche significativi contributi alla medicina tropicale, proseguendo il lavoro di altri studiosi, egli fu il promotore del chinino per il trattamento della malaria e dell'Atoxyl per la malattia del sonno.

Sembra opportuno però soffermarsi sull'eziologia della tubercolosi che gli diede una giusta fama internazionale, tanto che il N. Y. Times dichiarò trattarsi di «Una delle più grandi scoperte del secolo»².

L'aspetto da sottolineare del suo lavoro sulla tisi va attribuito non solo al risultato ottenuto, ma alla celerità dello stesso. Il 20 marzo del 1882, a soli otto mesi dall'inizio dello studio di questa malattia, Koch svolse la sua storica lezione sul bacillo della tubercolosi lezione che fu pubblicata tre settimane dopo.

Iniziò il suo lavoro, sulla scorta del medico francese Villemin, che sosteneva il valore sperimentale degli animali per lo studio della tisi; chiese l'accesso al materiale patologico del Charitè Hospital di Berlino, con lo scopo di dimostrare che la malattia era originata da un parassita, e, per arrivare a questo risultato, impiegò tutte le tecnologie utilizzate ed elaborate in sei anni d'esperienza: microscopio, colorazione dei tessuti, isolamento delle colture pure e inoculazione d'animali. L'agente causale della tubercolosi era veramente difficile da colorare e visualizzare nei tessuti malati, perché cresceva molto lentamente nelle colture; a Koch, dopo ripetuti tentativi ed esperimenti riuscì di trovare il mezzo per rilevare i bacilli, utilizzando il blu di metilene, e aggiungendo una concentrazione variabile d'alcali, come l'idrossido di sodio (NaOH).

Consapevole della difficoltà di trovare un nesso causale tra la presenza del batterio e lo sviluppo della malattia, doveva isolare i bacilli dal corpo infetto e coltivarli in colture pure; durante la crescita venivano poi prelevati e inoculati negli animali, causandone la malattia. Questa procedura metodologica diede l'impalcatura al protocollo di ricerca da seguire nei test di sperimentazione scientifica.

² *New York Times*, 3 Maggio 1882.

Loeffler, allievo di Koch, inoltre spiegò i motivi per cui Koch preferiva avere alle sue lezioni un pubblico di fisiologi piuttosto che uno medico (con ciò curiosamente, ma non troppo, mette in luce il ruolo della tradizione accademica).

Nel 1882, i ricercatori medici tedeschi erano ancora dominati culturalmente da Rudolf Virchow, egli era così riverito e rispettato che ogni cosa affermasse era considerata un vangelo, tant'è che una volta fu presentato ad un Congresso come “*il professore dei professori*”.

Virchow stabilì con Koch, in relazione ai suoi lavori batteriologici, un rapporto alquanto complesso perchè l'istituzione dell'Ufficio Imperiale per la Sanità fu vista da Virchow come un affronto alla sua immagine, ma era così grande l'importanza del lavoro sulla tubercolosi per Koch che volle comunicarlo senza indugi alla comunità medica scientifica. La lezione *Sulla tubercolosi*, richiamò un pubblico numeroso e, sebbene non si fondasse su risultati sperimentali, i presenti restarono in sala per ascoltarla fino alla conclusione; tutti si compiacquero di aver avuto l'opportunità di ascoltarlo.

Virchow affermò:

«Ciò che ho osservato oggi è stata una delle più importanti esperienze della mia vita scientifica»³.

Dopo tre settimane circa, un breve articolo di Koch sul *Berliner Klinische Wochenschrift*, ricevette consensi e plausi a livello internazionale, cui contribuì anche John Tyndall, impegnato in prima persona per la pubblicazione del testo in inglese. Il *London Time* continuò nei suoi editoriali a parlare dei vari problemi inerenti la ricerca sulla tubercolosi:

Se le ricerche del Dr. Koch, saranno confermate da ulteriori esperimenti, noi avremo una ragionevole speranza di ottenere un antidoto atto a debellare la tubercolosi. E' caratteristico di molte malattie causate dai bacilli il fatto che esse possono essere alterate dalla coltivazione e produzione di un virus in forma attenuata. L'inoculazione del virus attenuato offrì la protezione contro la malattia. Pasteur ha dimostrato che questo metodo può essere effettuato nel caso dei bacilli che causano il carbonchio

³ Möllers B., *Robert Koch - Persönlichkeit und Lebenswerk 1843-1910*. Schmorl und Seefeld Nachf, Hannover 1951, p. 133.

nel bestiame, vaccinando i capi. L'esperimento successivo riguardò l'inoculazione contro il vaiolo, che fu modificato e coltivato nel corpo dei bovini⁴[...].

Koch peraltro non fu buon profeta circa il probabile ostracismo da parte della comunità scientifica; invece il risultato dell'esperimento venne diffuso rapidamente in tutti i circoli medici tedeschi che, vollero riprodurlo nei loro laboratori.

Il solo Virchow continuò nel suo scetticismo ma, dopo che ebbe analizzato i preparati microscopici dovette ricredersi, ammettendo che, in tutti i casi dove era presente la malattia, si trovava quel caratteristico batterio.

L'impatto del lavoro di Koch nella concezione della salute pubblica e in batteriologia fu enorme, proprio grazie alla dimostrazione che *il Capitano della Morte* (come veniva chiamata la tubercolosi), era una malattia batterica. Koch fece della batteriologia una delle più importanti discipline mediche, ma anche fornì una procedura diagnostica di grande utilità (tubercolina), dando indicazioni sul trattamento dei pazienti tubercolotici. Le speranze generate dai mezzi di comunicazione per una rapida produzione del vaccino fu delusa, ma con gli studi sull'immunologia della tubercolosi si ebbero importanti novità. Il riconoscimento ufficiale della scoperta fu annunciata il 27/6/1882, a soli tre mesi dall'esperimento, il Kaiser Wilhelm nominò Koch, Consigliere Privato Imperiale e gli concesse, con l'aumento del salario, i supporti per nuovi esperimenti e per l'incremento numerico del personale.

⁴ London Times, 22 Aprile 1882.

II. Ricostruzione storica della querelle, scientifica e non, tra i fautori della moderna medicina. Il caso del carbonchio

Sia Koch sia Pasteur posero in essere clamorose scoperte relative all'eziologia e alla profilassi delle malattie infettive, le loro teorie sostituirono quelle ancora accettate agli inizi del XIX secolo, ma ormai incapaci di dare fondamenti scientifici alle nuove ricerche.

I due scienziati riuscirono a identificare la causa delle malattie infettive, individuando i microrganismi patogeni e le correlazioni di fattori determinanti quali le condizioni igieniche e sanitarie dell'ambiente, la diffusione degli agenti patogeni e l'andamento delle epidemie e pandemie e unirono le teorie sperimentali alle pratiche operative.

Le nuove prospettive interpretative della malattia dovettero provarsi, tuttavia, con la ritrosia del mondo scientifico che metteva in correlazione queste malattie con i soli veleni presenti nell'ambiente, le cosiddette «teorie miasmatiche»; nonostante essi proponessero la reale eziologia delle malattie infettive, ricevettero critiche che, però essenzialmente, attenevano al metodo d'attenuazione generale dei microrganismi e al processo di vaccinazione: Koch nel descrivere i progressi certi della nuova disciplina preferì parlare di batteriologia, a Pasteur piacque microbiologia.

Koch e Pasteur ebbero anche occasione di confrontarsi in più occasioni, in particolare, per l'eziologia e la profilassi del carbonchio (1876-1882), per l'individuazione del microrganismo causa del colera (entrambi con le rispettive equipe, si erano recati in spedizione in Egitto nel 1882), da parte di Koch corredata da un dettagliato programma di ricerca e di prevenzione atto a debellarlo, fu la riluttanza di Pasteur ad accettare i lavori di Koch sulla tubercolosi (1882).

Pasteur, profondamente cattolico, desiderava tenere separate l'area scientifica dalla religiosa (riprendeva così aspetti significativi della tradizione e rilanciava il problema della emancipazione della scienza e dell'etica dello scienziato).

La querelle tra i due scienziati, inoltre, fu esacerbata anche da ragioni extrascientifiche, tra cui la guerra franco-prussiana (1870-1871), che vide la personale partecipazione di Koch e l'atteggiamento di forte antitesi di Pasteur,

culminata, dopo Sedan e in piena Comune, con la restituzione del diploma di Laurea in Medicina nel gennaio del '71 all'Università di Bonn.

Pasteur era particolarmente provato dalla guerra, egli affermerà:

«Non solo la Francia, umiliata e vinta, che bisogna rigenerare, ma più generalmente la specie umana e, più precisamente, le masse urbane»¹.

La guerra influenzò notevolmente lo sviluppo della scienza, avendo ripercussioni anche sull'Accademia delle Scienze.

Per Pasteur grande ammiratore di Napoleone III, il collasso dell'Impero fu un incubo. In seguito alla guerra, il governo italiano gli offrì la Cattedra di Chimica presso l'Università di Pisa, dopo qualche esitazione rifiutò: «Mi sentirei un disertore se cercassi, lontano dalla Patria in pericolo, una situazione migliore di quella che la Francia mi può offrire».

Dopo la sconfitta, Pasteur rivolgendosi all'opinione pubblica ed al governo, chiese di finanziare lautamente i laboratori francesi e le altre istituzioni culturali. Nel 1871, pubblicò un opuscolo nel quale deprecava le circostanze che impedivano ai giovani studenti francesi di dedicarsi con tutte le loro energie alla ricerca scientifica e paragonava lo stato miserabile in cui si trovavano i laboratori francesi coi notevoli finanziamenti che venivano erogati in Germania. In parte, anche grazie al contributo dello scienziato francese, nacquero diverse commissioni scientifiche atte a consigliare il governo francese nelle future scelte strategiche, tra queste ricordiamo l'*Association Francaise pour l'Avancement des Science*, che vide soci del calibro di: Claude Bernard, Delaunay, Friedel, Quatrefages e Wurtz.

All'indomani della guerra, al cieco odio contro la Germania subentrò nel Paese, almeno tra gli scienziati, una cognizione più giusta sulle qualità del concorrente principale nella corsa verso il progresso. Parte dei successi furono attribuiti agli equipaggiamenti scientifici perfezionati di cui dispose, e dei quali i francesi furono sprovvisti per l'indifferenza della classe politica verso la scienza. Chantemasse, scienziato dell'Istituto Pasteur, di ritorno dalla Germania, affermò con tono amaro:

¹ Latour B., *I microbi. Trattato scientifico-politico*, Editori Riuniti, Roma, 1991.

«Se avessimo le stesse risorse dell'Istituto centrale di Berlino, diretto da Koch!»².

In quelli stessi giorni Marcelin Berthelot scrisse su *Science et Philosophie*: «Gli Istituti francesi sono poveri e male equipaggiati; i laboratori tedeschi sono dotati in modo sorprendente»³.

La querelle si esacerbò quando i due studiosi affrontarono gli studi sul bacillo antracico: Koch rivendicò di esser stato il primo a provare la causalità della malattia carbonchiosa, richiamando i suoi articoli del 1876, e anche l'utilizzo dei criteri che in seguito furono conosciuti come Postulati di Koch. Tuttavia lo scienziato francese gli negò questo riconoscimento, affermando di essere stato egli stesso ad averla documentata nel 1877; le rivendicazioni diedero inizio ad una accesa disputa che rapidamente interessò le comunità scientifiche dei reciproci paesi d'appartenenza: Francia e Germania.

Robert Koch nell'articolo del 1876⁴, inizia la disamina sul carbonchio attribuendo a Davaine i primi tentativi di vaccinazione e di individuazione della causa della malattia, i batteri antracici, altresì comprendendo che la teoria di Davaine, di cui si dirà in seguito, sul modo di propagazione della malattia infettiva, fosse solo in parte corretta in quanto i batteri mantenevano la loro virulenza solo in ragione del fatto che potevano trasformarsi in spore aventi la caratteristica, in determinate condizioni, di reiterare morfologicamente e funzionalmente la virulenza; che rilevava, nel sangue e nei liquidi dei tessuti degli animali affetti da carbonchio, la proliferazione e scissione dei batteri era continua e che, nel sangue degli animali morti o in liquidi nutrienti i bacilli, a determinate variabili di temperatura e ossigeno, assumevano l'aspetto di spore.

Nell'articolo summenzionato mi pare di rilievo sottolineare i risultati cui era giunto per quanto riguarda l'eziologia del carbonchio:

² Dubos R., *Pasteur e la scienza moderna*, Einaudi, Torino, 1962, p. 140.

³ *Ibid.*, p. 141.

⁴ Koch R., *Untersuchungen über Bakterien. V. Die Aetiologie der Milzbrand-Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis. Von Dr. Koch, Kreisphysikus in Wollstein. Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Herausgegeben von Dr. Ferdinand Cohn. Zweiter Band. Mit sechzehn Tafeln, Breslau, 1876.*

[...] Non sono stati ancora condotti nemmeno gli esperimenti sul rapporto di cadaveri di dimensioni maggiori, morti da carbonchio, sotto diverse temperature, in diverse profondità e tipologie del terreno (argilloso, calcareo, sabbioso, asciutto, umido, influsso di falde acquifere), rispetto alla formazione delle spore dei bacilli e sarebbe di un'enorme utilità pratica ricavare da questo delle conoscenze precise. Dovrebbero essere sperimentate ancora una serie di particolari sul rapporto dei bacilli e delle loro spore nei confronti delle sostanze, che inibiscono o modificano il loro sviluppo, e sul loro processo di migrazione nei vasi sanguigni e linfatici. Ma, se da una parte ci sono ancora così tante domande da risolvere riguardo a questo parassita così enigmatico, dall'altra il suo percorso di vita è posto in maniera così aperta davanti a noi, da poter essere in grado di stabilire con la massima sicurezza, almeno nei fondamenti, l'eziologia della malattia da lui indotta.

Davanti al fatto che, le sostanze di carbonchio, indipendentemente che siano relativamente fresche, putrefatte o asciutte e abbiano molti anni, provochino il carbonchio solamente quando contengono bacilli o spore del *Bacillus Anthracis* in grado di svilupparsi, davanti a questo fatto devono cessare tutti i dubbi sul fatto se, il *Bacillus Anthracis* rappresenti veramente la causa primaria del carbonchio e del suo contagio. La trasmissione della malattia attraverso i bacilli umidi nel sangue totalmente fresco, avviene in natura del tutto raramente, al massimo può accadere negli uomini, ai quali, durante l'abbattimento, la macellazione e la spellatura, può finire del sangue o del liquido dei tessuti di animali affetti da carbonchio, in eventuali ferite. Più frequentemente accade che la malattia venga indotta dai bacilli asciutti, i quali, come dimostrato, mantengono la loro efficacia per alcuni giorni e, nel caso migliore, anche per circa cinque settimane. Attaccati agli insetti, alla lana e simili, ma soprattutto con la polvere, possono finire sulle ferite e richiamare così la malattia. Masse contenenti bacilli, che finiscono nell'acqua e vi vengono fortemente diluite,

perdono ben presto la loro efficacia e contribuiscono probabilmente solo marginalmente alla diffusione del carbonchio.

Ma, la vera e propria massa delle affezioni, che compare quasi sempre in circostanze simili, tanto da escludere i metodi di contagio appena elencati, può essere causata solamente dalla migrazione di spore del *Bacillus Anthracis* nel corpo animale. Infatti, gli stessi bacilli riescono a restare in vita solamente per breve tempo in condizioni asciutte continue e non riescono perciò a mantenersi né nel terreno umido, né a opporre resistenza alle condizioni atmosferiche mutevoli (precipitazioni, rugiada), mentre le spore non resistono in nessun modo. Né l'aridità per anni e anni, né la permanenza per mesi nel liquido putrefatto, né il ripetuto prosciugamento e umidificazione riesce a disturbare la loro capacità di germogliazione. Una volta che queste spore si sono formate, allora è garantito a sufficienza che il carbonchio, per lungo tempo in una zona, non si estingue. Ma, che la possibilità per la sua comparsa sia data abbastanza spesso, è stato già sottolineato in precedenza. Un unico cadavere, trattato inadeguatamente, può procurare spore in quantità innumerevoli e, quando anche milioni di queste muoiono senza arrivare alla germogliazione nel sangue di un animale, nonostante la loro enorme quantità, ci sono non poche probabilità che alcune, forse dopo una lunga permanenza nel terreno e nelle falde acquifere, o nei peli, o nelle corna, negli stracci o simili, asciutte sotto forma di polvere, oppure con acqua, capitino sulla pelle degli animali e qui, in maniera diretta, entrino attraverso una ferita nel canale sanguigno, oppure in seguito a strofinamenti e graffiature dell'animale, vengano introdotte in piccole aperture della pelle. E' possibile che entrino anche dalle vie respiratorie o dal canale digerente nei vasi sanguigni o linfatici.

Se quindi è riuscito di trovare il modo di propagazione del carbonchio e le sue condizioni, per le quali il contagio si rigenera sempre daccapo, non sarebbe possibile, sotto

osservazione di queste condizioni di contagio, modificare il *Bacillus Anthracis* durante il suo sviluppo e ridurre così la malattia al minimo o, addirittura, annientarla del tutto? Che questa domanda susciti un interesse non indifferente, è dovuto, secondo Spinola, al fatto che un unico circolo prussiano (circolo marino di Mannsfeld) perde annualmente, a causa del carbonchio, pecore del valore di 180.000 marchi, e che solamente nella regione di Nowgorod, negli anni 1867-1870, morirono di carbonchio più di 56.000 cavalli, mucche e pecore e, inoltre, 528 persone.

Le direttive attualmente esistenti contro il carbonchio si limitano all'obbligo di notificazione, al seppellimento dei cadaveri in fosse abbastanza profonde, alla disinfestazione e alla chiusura del luogo infestato dalla vittima. A prescindere dal fatto che, a causa delle regole di sbarramento altamente fastidiose, possono essere rilevati solamente pochissimi casi di carbonchio e che il carbonchio, diffuso maggiormente tra le pecore, resta quasi del tutto inosservato e viene così trascurato, evidentemente in questo modo il seppellimento dei cadaveri nei terreni umidi provoca la formazione delle spore e la diffusione del contagio, anziché impedirla. Fino ad ora, evidentemente, con tale metodo non è riuscito ancora da nessuna parte di annientare definitivamente il carbonchio. Oemler al contrario ha ridotto la sua perdita di pecore, per via del carbonchio, dal 21% al 2% all'anno, dopo aver vietato severamente il seppellimento dei cadaveri, senza eccezione, sui campi e pascoli.

Ci dobbiamo quindi guardare attorno, alla ricerca di altri metodi per liberare le greggi da questo "angelo sterminatore" e proteggere migliaia di persone da una morte straziante.

La soluzione migliore sarebbe quella di sterminare tutte le sostanze che contengono il *Bacillus Anthracis*. Ma, dato che non è possibile rendere inoffensive, tramite prodotti chimici, queste quantità di cadaveri, procurati dal carbonchio, oppure eliminarle bruciandole, dobbiamo rinunciare a questo metodo radicale. Ma, se si riuscisse a impedire, o almeno ridurre al minimo, lo

sviluppo dei bacilli in spore, allora le affezioni da carbonchio dovrebbero diminuire sempre di più fino a scomparire completamente.

Dato che, come abbiamo visto, per la formazione delle spore i bacilli necessitano di accesso di aria, umidità e una temperatura elevata di almeno 15°, allora dovrebbe essere sufficiente togliergli una di queste condizioni, per impedirgli la continuazione dello sviluppo. Il veloce inaridimento di grossi cadaveri necessiterebbe di apparecchiature specifiche e comporterebbe difficoltà maggiori che non bruciandoli. Al contrario, durante l'estate si potrebbero raffreddare i cadaveri, senza troppo impegno o costi, per lungo tempo sotto 15°, contemporaneamente limitargli l'afflusso di ossigeno e, in questo modo, portare i bacilli alla morte. Se infatti si pensa che, nell'Europa centrale, particolarmente in Germania, ad una profondità del terreno di circa 8-10 metri regna una temperatura quasi costante e, anche nella parte centrale dell'anno, rimane in ogni caso sotto i 15°, allora bisognerebbe semplicemente predisporre delle fosse abbastanza capienti a questa profondità e disporvi dentro i cadaveri da carbonchio, per annientare i bacilli e rendere così inoffensivi i cadaveri. In base alla media dei casi di carbonchio, le fosse di questo tipo dovrebbero essere fatte in numero maggiore o minore in determinati territori. Questi infatti, dovrebbero essere situati ad una distanza elevata dal centro abitato e dotati di una recinzione sicura. In questo modo si giungerebbe al vantaggio, da non trascurare, che non accadrebbe più, come fino ad oggi l'esperienza mi ha insegnato che, i cadaveri seppelliti a norma vengano costantemente tolti nuovamente fuori dalla fossa, fatti a pezzi e sparsi in giro da ladri della notte (la maggior parte delle volte si tratta delle stesse persone che durante il giorno li hanno seppelliti).

Probabilmente, anche l'influsso di determinati tipi di terreno o una particolare carenza di umidità e profondità della falda acquifera impediscono lo sviluppo delle spore, per cui la comparsa del carbonchio, legata a determinate zone, e la

diminuzione dello stesso indicano un ampio miglioramento e un prosciugamento.

Il caso documentato da Buhl, che tra i cavalli della scuderia di Neuhof a Donauwörth il carbonchio sparì totalmente quando, su consiglio di v. Pettenkofer, si ridusse lo stato della falda acquifera tramite drenaggio, appartiene anch'esso a questo argomento⁵.

Dai numerosi esperimenti eseguiti ebbe modo di accertare l'intero ciclo di vita dei batteri antracici, ricevendo in ciò un rilevante avallo sul metodo e sui risultati dal prof. Ferdinand Cohn.

Va detto che le ricerche di Koch furono eseguite in condizioni approssimative, senza avere contatti con i membri della comunità scientifica che svolgevano studi sul carbonchio e che le sue indagini avevano, come scopo principale, quello di tracciare il ciclo di vita del bacillo dell'antrace.

Possono essere considerati come propedeutici allo studio dell'eziologia del carbonchio, gli studi di igiene e di salute pubblica, relativi alle miniere ed alle fonderie, del fratello a Clausthal e del padre Hugo, direttore di una miniera a Tarnowitz, proseguiti in un importante viaggio nell'autunno del 1875 nei centri di ricerca scientifica della Germania, per studiare l'importanza dei batteri nelle malattie infettive. Il medico berlinese tornò rinvigorito e motivato da questo viaggio, poté così fornire un contributo significativo alla ricerca scientifica: avendo molto apprezzato i convegni del *Deutsche Gesellschaft für öffentliche Gesundheitspflege* a Monaco, il *Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte* a Gratz, Austria e la visita di importanti laboratori di ricerca come quello del famoso igienista M. Von Pettenkofer a Monaco.

Koch iniziò le sue ricerche sul carbonchio quando il panorama scientifico internazionale già offriva le procedure di Lister per la chirurgia antisettica e i suoi studi sui microbi della fermentazione e della putrefazione avevano già avuto un positivo riscontro, dando forte credibilità all'ipotesi che i microbi fossero l'origine delle malattie infettive.

Anche J. Henle (1809-1885), uno dei maestri di Koch a Gottingen, scrisse a proposito di ciò che era chiamato *contagio come entità vivente*.

⁵ *Ibid.*, p. 302-306.

Nel 1875, la controversia sulla natura parassitaria delle malattie infettive fu il tema dei congressi medici che si tenevano in tutta Europa. Se alcuni dei più grandi patologi dell'epoca, come R. Virchow di Berlino e Th. Billroth di Vienna, negavano il ruolo dei microrganismi nelle malattie infettive, invece un appassionato difensore dell'origine parassitaria delle malattie infettive fu E. K. Klebs, medico tedesco, a quel tempo professore all'Università di Praga presso la Facoltà d'Anatomia patologica, che divenne uno degli oppositori di Virchow, suo maestro.

Klebs era un appassionato cultore degli insegnamenti di Henle e seguiva gli studi sull'inoculazione e sulle colture di difterite, vaiolo ed altro. Klebs andava affermando che con la malattia era la sua causa a riprodursi e, sottolineava i passi sperimentali conosciuti come Postulati di Koch:

- studi microscopici dell'organismo malato;
- isolamento e coltura dei germi associati alla malattia;
- produzione della malattia attraverso l'inoculazione di una sua coltura di germi negli animali sani.

Le idee di Klebs erano buone, ma la sua tecnica batteriologica non altrettanto, egli non riuscì ad ottenere colture pure e fu incapace di convincere i colleghi sulla validità delle sue idee.

Il più importante precursore di Koch nello studio sul carbonchio, fu lo scienziato francese C. J. Davaine (1812-1882), influenzato dal lavoro di Pasteur sull'origine microbica della fermentazione pubblicato solo alcuni anni prima, che dimostrò chiaramente la trasmissibilità del carbonchio; Davaine così si esprime in un articolo del 1850:

Nel 1850 ho potuto esaminare con M. Rayer numerosi casi di questa malattia, sia nel suo laboratorio a Parigi, sia durante un'escursione a Chartres, dove accompagnai questo saggio maestro. Prima di questo viaggio, Rayer aveva inoculato una pecora con il *sang de rate* di un'altra pecora morta per questa malattia e l'inoculazione ne aveva determinato la morte, morì dopo il 3° giorno. Ripetei l'esperimento sotto i suoi occhi a Chartres e in presenza di numerosi medici e illustri veterinari della nazione; ebbe lo stesso risultato. Dalle nuove inoculazioni praticate su diversi animali dagli scienziati di cui ho fatto

menzione, si dimostrò che la malattia del *sang de rate* è trasmissibile, non solamente alle pecore, ma anche al bue, al cavallo e ad altri animali, provocandone la morte nell'arco di due o tre giorni [...]⁶.

... Pasteur, nel febbraio 1861 pubblicò il suo importante lavoro sul fermento butirrico, fermento sotto forma di piccoli bastoncini cilindrici aventi la caratteristica di vibrioni. I corpuscoli filiformi che avevo osservato nel sangue delle pecore colpite dal *sang de rate* avevano una grande analogia morfologica coi vibrioni, io fui portato ad esaminare se analoghi corpuscoli a quelli che determinarono la fermentazione butirrica, introdotti nel sangue di un animale non giocassero lo stesso ruolo del fermento. Così si spiegherebbe facilmente l'alterazione, l'infezione rapida del sangue in un animale che ha ricevuto accidentalmente o sperimentalmente nelle sue vene un certo numero di questi batteri, vale a dire di questo fermento. Queste riflessioni mi fecero desiderare più vivamente di esaminare nuovamente il sangue degli animali colpiti dal *sang de rate*, ma trascorsero due estati senza che abbia potuto procurarmi alcuna pecora affetta da questa malattia. [...]⁷

È da molto tempo che medici e naturalisti hanno ammesso teoricamente che le malattie contagiose, le gravi febbri epidemiche, la peste etc... sono determinate da animali microscopici invisibili oppure da fermenti, ma io non so se sia giunta una osservazione positiva che confermi queste opinioni. Non affronterò affatto oggi la questione di sapere se i batteri del *sang de rate* giocano presso le pecore e negli animali inoculati il ruolo di questi animali microscopici o il ruolo di un fermento. Spero di poter apportare in seguito a nuove osservazioni luce su questo argomento, osservazioni che, estese alle malattie più o

⁶ Pathologie - *Recherches sur les infusoires du sang dans la maladie connue sous le nom de sang de rate*; par M. C. Davaine. Note présentée par M. Cl. Bernard, 1850, p. 220.

⁷ *Ibid.*, p. 221.

meno analoghe nell'uomo, acquisterebbero nuovo interesse. Io mi limito per il momento a segnalare un fatto che considero nuovo. L'esame di sei animali colpiti a morte a causa del *sang de rate* ha dimostrato che per sei volte nel loro sangue la presenza degli stessi esseri microscopici. Questi corpuscoli si sono evidentemente sviluppati durante la vita dell'animale infetto e la loro relazione con la malattia che porta alla morte non può essere messa in dubbio⁸.

A motivare l'interesse di Koch fu l'epidemia di carbonchio a Bomst del 1873, che causò la morte di molti capi di bestiame; poté fare osservazioni microscopiche del sangue delle capre morte, e nell'aprile del '74, dopo continue osservazioni, ipotizzò che i batteri di Davaine in forme di spore, causavano la malattia.

Nel dicembre del '75, Koch inoculò una goccia di sangue prelevata da pelle infetta nell'orecchio di un coniglio e l'animale si ammalò e morì 24 ore dopo l'inoculazione.

In gran fretta Koch rimosse chirurgicamente l'orecchio inoculato, ne asportò la pelle dal lato dell'inoculazione e li ripeté in una provetta contenente alcool; così, il giorno successivo poté studiare accuratamente la causa della morte dell'animale; sezionando la ghiandola inguinale e l'orecchio per l'esame al microscopio.

I campioni erano contaminati da batteri. Ad un altro coniglio inoculò nella cornea materiale proveniente dalla ghiandola inguinale; la crescita dei batteri nel liquido della cornea lo predispose ad usare l'umor vitreo per la produzione di una coltura artificiale del batterio carbonchioso.

Passato in tal modo alla produzione di colture artificiali, Koch presto scoprì l'importanza della temperatura, intorno ai 30-35° per la crescita della coltura, e della variabile ossigeno. Dagli esperimenti connessi, svolti in laboratorio, dedusse il ruolo dell'aria e la necessità di una camera di coltura in vitro per ottenere una buona aerazione, ma anche la protezione dall'aridità. Nell'umor vitreo testò una coltura media che permise la crescita della formazione di spore.

In tempi brevi proseguì lo studio nei dettagli della biologia del bacillo carbonchioso, utilizzando per la classificazione la terminologia utilizzata da Cohn: bacillo dell'antrace.

Koch affermando che il batterio formava spore con la proprietà di crescere nuovi

⁸ *Ibid.*, p. 223.

batteri, seppure in tempi diversi, determinò la eziologia scientifica del carbonchio.

Notò che le cavie erano solamente dei roditori mentre la malattia degli animali domestici era presente nei ruminanti, che il tessuto carbonchioso, indipendentemente dal suo stato di conservazione, poteva riprodurre la malattia quando queste sostanze contenevano bacilli capaci di sviluppare le spore del carbonchio e che, se queste spore si trovavano nel suolo di una regione, c'era una buona ragione per credere che il carbonchio si sarebbe sviluppato in codesto luogo per diversi anni.

Restavano tuttavia dei dubbi, nel totale isolamento del piccolo villaggio di Wollstein dove viveva circa la correttezza delle ricerche intraprese; se il bacillo dell'antrace e le sue spore, non descritte fino ad allora, fossero la causa del carbonchio; se poteva rischiare la pubblicazione del lavoro esponendolo al severo giudizio della comunità scientifica.

Deciso però a fugare ogni dubbio, si rivolse alla maggiore autorità nel settore della biologia sui batteri, il professor F. Cohn dell'Università di Breslau, comunicandogli di aver finalmente scoperto il ciclo di vita del bacillo dell'antrace ed esprimendogli, al contempo, la necessità di sentire il suo parere prima di pubblicarne il lavoro; gli chiese un appuntamento per una visita guidata nel suo Istituto onde mostrargli i preparati.

È stato possibile ricostruire lo storico incontro perché Koch teneva un diario e Cohn un registro degli eventi dell'Istituto.

Koch immediatamente iniziò gli esperimenti: prese del sangue fresco dalla milza di un topo morto di carbonchio e preparò alcune colture; Eidam, assistente di Cohn, fu sorpreso di come i bacilli crescessero in vitro in lunghi filamenti; il risultato di questi esperimenti fu visibile il giorno successivo; il batterio coltivato in vitro ancora formava spore; in Cohn crebbe l'entusiasmo e così nell'intera Università.

J. Cohnheim, Direttore dell'Istituto di patologia nella medesima Università, al quale furono mostrate le colture e le tecniche impiegate, fece con Koch alcune microfotografie usando gli strumenti di Cohn.

Lo stesso Cohnheim con altri ricercatori dell'Istituto, incluso Weigert, seguirono le dimostrazioni di Koch, che vide confermata la sua ricerca dal fatto che Cohn ottenne gli stessi risultati, separatamente.

Koch mantenne uno stretto rapporto con il suo collega Cohn, intessendo una fitta corrispondenza anche sugli esperimenti in microbiologia.

Eidam, inviato a Wollstein, ricevette il compito di istruirsi sulle tecniche e sulle metodologie d'avanguardia utilizzate dal medico tedesco.

I risultati degli esperimenti di Koch meritano adeguata segnalazione con l'articolo *Untersuchungen uber bacteriem* nella rivista di Cohn *Beitrage zur biologie der pflanzen*.

Lo stesso Cohn in visita dal medico J. Tyndall in Inghilterra, assicurò sviluppo e fama per la batteriologia e per Koch. Tyndall appena lesse l'articolo di Koch nel *Royal Society*, relativo alla presenza nell'aria di batteri resistenti alla sterilizzazione derivata dall'ebollizione ebbe conoscenza dei suoi lavori e grazie a Cohn, ne condivise in toto i risultati, impegnandosi in prima persona per la pubblicazione del lavoro in inglese. Cohn informò Koch riguardo al colloquio positivo avuto con Tyndall, e Koch gli rispose dichiarando la sua felicità per l'approvazione ricevuta.

L'articolo sul *Beitrage zur Biologie der Pflanzen*, però suscitò anche le reazioni negative da parte d'alcuni ricercatori.

Ulteriori approvazioni vennero da Cohn, quando, inviata una copia dell'articolo al chirurgo viennese Th. Billroth, ebbe risposta immediata con un altro articolo fatto pubblicare dal suo assistente A. Frisch. Billroth affermava che il lavoro di Koch confermava quello del suo allievo; Frisch aveva inoculato un animale con materiale prelevato dalla cornea di un coniglio infetto da carbonchio, descrivendone lo sviluppo batterico. Billroth affermò che gli organismi osservati erano spore, uguali a quelle descritte da Koch; e affermava:

Non c'è migliore indicazione della correttezza dei risultati sperimentali del fatto che i due ricercatori, partendo da punti di vista diversi e adottando metodi differenti, abbiano ottenuto gli stessi risultati⁹.

Risoluto a ribadire la priorità dei suoi lavori, Koch, controbatté che i dati di Frisch non fornivano l'evidenza delle spore, e a Cohn scrisse:

⁹ *Ibidem*.

La sola cosa nuova nell'articolo di Frisch era che il bacillo cresce nella cornea senza formare i caratteristici filamenti. Tutti i disegni di Frisch mostrano catene di verghe ma non filamenti. Io non credo che Frisch abbia veramente visto le spore. Il risultato ottenuto dal medico contraddice gravemente quello ottenuto da me dopo duro lavoro, ciò mi porta a pensare che abbia fatto confusione con altri tipi batterici¹⁰.

Grazie allo sforzo congiunto di Cohn e Cohnheim l'importanza della scoperta di Koch fu gradualmente apprezzata dalla comunità medica, ma ci vollero diversi anni affinché le idee dello scienziato avessero una completa accettazione.

Koch dimostrò che il bacillo formava spore che potevano rimanere in circolo per lunghi periodi, anche in ambienti ostili; tale scoperta rimosse alcuni degli ostacoli per riconoscere i bacilli come causa del carbonchio; in particolare, spiegò come gli scienziati potessero fallire nel rinvenimento dei bacilli negli animali ammalati e come il sangue, che non conteneva alcun bacillo osservabile, potesse tuttavia a volte indurre il carbonchio: animali inoculati con masse di spore derivate interamente da colture pure del bacillo di antrace ne morivano.

Nel suo articolo Koch scrisse: “La sostanza esaminata, fresca o secca, può causare il carbonchio, se conteneva il bacillo dell'antrace”¹¹.

Rimuovendo tutti i dubbi che il bacillo dell'antrace fosse la vera causa della malattia. In un articolo del 1881 riaffermò il concetto di causalità della malattia:

Così, il carbonchio non si sviluppa mai se non in presenza del bacillo dell'antrace. Secondo me, altre prove esaustive possono essere date sul fatto che il bacillo dell'antrace sia la vera causa del carbonchio¹².

Occorreva però una tecnica precisa per isolare i bacilli da ogni possibile contaminazione. Per Pasteur il lavoro di Koch non dava certezza che i bacilli fossero la vera causa del

¹⁰ K.C. Carter, *The Koch-Pasteur dispute on establishing the cause of Anthrax*, in “Bulletin of the History of Medicine”, 62, 1988, p. 48.

¹¹ *Ibidem*.

¹² *Ibidem*.

carbonchio, tuttavia aggiunse che bisognava arrivare ad una dimostrazione conclusiva; Koch, concordò nel riconoscere come principale problema quello di provare che tra tutti gli organismi presenti nel sangue degli animali infetti da carbonchio, il bacillo dell'antrace fosse l'agente causale specifico.

Pasteur in un secondo articolo sul carbonchio, pubblicato nel medesimo anno dichiarò:

Gli esperimenti che ho notificato all'Accademia hanno dimostrato senza possibile smentita che esiste un organismo microscopico, unica causa del carbonchio; è il batterio scoperto per la prima volta da Davaine nel 1850¹³.

Gli studi di Pasteur sul carbonchio risalgono al 30 aprile 1877, data di presentazione di una memoria all'*Académie des Sciences, Etude sur la maladie charbonneuse*, nella quale non tralasciava l'elogio a Davaine e a Koch per i contributi apportati nello studio della malattia. Pasteur dapprima documentò l'origine batterica del carbonchio, smentendo gli studi precedenti eseguiti da Leplat e Jaillard¹⁴, poi mise a punto una metodologia scientifica derivante dal presupposto che il bacillo dell'antrace fosse l'unica causa della malattia.

Pasteur, nonostante il riconoscimento all'operato di Davaine affermò di essere stato il primo a dimostrarne la causalità coltivando serialmente i batteri e rimuovendo i microorganismi estranei al carbonchio. Koch e Klebs, dall'altra parte, obiettarono che Pasteur ripeteva gli esperimenti che Tiegel aveva già condotto sedici anni prima, e che quindi, non introduceva alcuna autentica novità.

Il metodo d'immunizzazione dal carbonchio derivò però da una constatazione asistemica: inoculati con colture virulente alcune pecore che avevano pascolato in

¹³ *Ibid.*, p. 50.

¹⁴ Leplat e Jaillard nell'"Esperienze intorno all'azione dei batterii sull'economia animale" e nel Resoconto presentato all'Accademia delle Scienze di Parigi il 1/08/1864 in merito all'eziologia del carbonchio pervengono alle seguenti conclusioni: 1. I vibrioni (batterii o vibrioni) provenienti da un mezzo qualunque, non riproducono alcun accidente negli animali, nel sangue dei quali furono introdotti, a meno tuttavia che non siano accompagnati da agenti virulenti, i quali da soli sono responsabili degli effetti sinistri che possono sopravvivere; 2. se il veicolo iniettato che li contiene è putrido, o in troppa grande quantità, ha luogo un avvelenamento septicemico, ma non si sviluppano malattie virulente, perocchè i medesimi fenomeni non si riproducono in seguito all'iniezione del sangue contaminato; p. 60 *op. cit.*.

luogo infetto, osservò che non tutti si ammalavano; pensò che nel pascolare essi verosimilmente avessero contratto un'infezione benigna e questa li aveva resi resistenti ad una successiva grave infezione; per avere conferma dell'ipotesi formulata inoculò una coltura attenuata. Uno dei problemi negli esperimenti sul bacillo del carbonchio fu che, pur formando spore e sopravvivendo alla tecnica dell'essiccamento, valida invece per il colera dei polli, si dimostrava inefficace e le spore resistevano immutate. Pasteur risolse il problema manipolando la variabile temperatura: ottenuta la coltura avirulenta operò di in due tempi, facendo seguire alla prima una seconda vaccinazione essendosi rivelata l'unica immunizzazione solo temporanea. Pasteur e Joubert poterono dimostrare che la causa del carbonchio era effettivamente un bacillo, solamente nell'aprile del '77, superando così la teoria del "virus chimico" o del "fermento solubile", infatti se i filtrati di sangue di un animale infetto non producevano la malattia negli animali da laboratorio, anche una sola goccia di sangue non filtrato era sufficiente a provocarla. Pasteur ottenne, infine, l'isolamento del vibrione, organismo anaerobio responsabile della setticemia o putrefazione, dal bacillo aerobico causa del carbonchio. Solamente nell'80 fu in grado di confermare l'ipotesi di Koch sulla trasmissibilità del carbonchio attraverso l'alimentazione. Va tuttavia ricordato che la vaccinazione contro il carbonchio era già stata realizzata in precedenza dal veterinario di Tolosa Henri Toussaint, che nel 1880, annunciava di aver reso immuni alcuni capi di bestiame, seguendo il metodo dell'inoculazione preventiva, sebbene Pasteur ne criticasse i fondamenti teorici e la pratica d'attenuazione della virulenza.

Pasteur, si interessò anche al mezzo della diffusione del carbonchio nei terreni contaminati da carogne d'animale con un'ipotesi a hoc, affermando essere : «I lombrichi che fungono da messaggeri dei germi e che dalla profondità delle fosse, riportano alla superficie del suolo il terribile parassita »¹⁵; tale ipotesi fu però messa in dubbio da Koch.

Dopo il 1877, Pasteur continuò a pubblicare regolarmente articoli sul carbonchio e sulle malattie infettive, nella sua bibliografia si contano sette scritti nel 1878, sei nel 1879 e cinque nel 1880; convinto di aver dimostrato conclusivamente la causalità nell'articolo del '77, continuò a ribadire e a precisare le sue argomentazioni e così, in un articolo dichiarò di aver passato il bacillo dell'antrace attraverso un centinaio di

¹⁵ L. Pasteur, *ibid.*, vol I, 261.

colture per assicurarsi che fosse stato isolato completamente e nelle successive pubblicazioni riferì i suoi tentativi di identificare l'agente causale di altre malattie usando la stessa strategia d'isolamento ed inoculazione.

Nel settembre '78, in vacanza ad Arbois, in risposta al Ministro dell'agricoltura che gli chiedeva di trovare un rimedio vaccinale per risolvere le gravi epidemie di carbonchio che regolarmente colpivano il dipartimento d'Eure-et-Loire, indicò le motivazioni che avevano portato allo studio della malattia: 1. interesse scientifico per l'eziologia della malattia;

2. possibili ripercussioni per l'economia agro-pastorale causate dal propagarsi della malattia nell'intero territorio.

L'esperimento condotto a seguito della richiesta ministeriale, si svolse il 5 maggio in una tenuta agricola di proprietà del veterinario Rossignol, alla presenza di una gran folla; fu un successo. Pasteur ed i suoi collaboratori si sottoposero ad un protocollo d'intesa molto severo per la parte procedurale, a detta dei suoi assistenti Chamberland e Roux che, per l'esperimento, riuscirono a convincere Pasteur dell'incertezza del procedimento approntato, avendo scoperto autonomamente, seguendo il metodo di Toussaint, che si poteva impedire la sporulazione ed ottenere l'attenuazione della virulenza del germe, aggiungendo alle colture bicromato di potassio ($K_2Cr_2O_7$) o acido fenico (C_6H_5OH). Pur salvando la forma, Pasteur decise di cambiare il metodo previsto facendo credere di averlo utilizzato; in una nota all'Accademia delle Scienze, dichiarò che in realtà l'esperimento di Pouilly-le-Fort era stato realizzato con il metodo proposto dai collaboratori. In un quaderno egli scrive:

Il batterio (bactéridie) impiegato come primo vaccino [...] è stato un batterio attenuato con bicromato di potassio e che, non uccidendo più del tutto, era stato rinforzato con tre passaggi successivi in tre cavie¹⁶.

Quindi il successo dell'esperimento va attribuito a Chamberland e Roux, che proposero di trattare le colture con i sopraccitati additivi chimici e resero così vincente la prova. Pasteur nei giorni che precedettero il giudizio finale sull'esperimento, viene descritto come una persona pensierosa, incerta, pronta ad attribuire l'eventuale

¹⁶ L. Pasteur, *Cahier 91*, p. 115.

insuccesso ai suoi collaboratori; quando arrivò il giorno del successo, egli stesso disse:

«Ebbene, uomini di poca fede»¹⁷.

Lo stesso Koch¹⁸ intuisce l'insicurezza di Pasteur nell'approntare l'esperimento sul carbonchio in particolare sul metodo d'attenuazione, facendone motivo di critica e di obiezione; critici e oppositori obiettarono in particolare su due implicazioni determinate dagli esperimenti:

1. ridurre la causa di una malattia ad un tale agente microscopico, minimizza l'importanza di studiare l'intero organismo dell'individuo malato;
2. È assurdo ritenere che un'opportuna inoculazione di questo stesso agente possa impedire ad un individuo di essere contagiato dalla malattia.

Dopo la messa a punto del metodo d'attenuazione della malattia del carbonchio e del relativo vaccino approntato dall'équipe francese, Pasteur chiese al Presidente del Consiglio, Gambetta, la costruzione di una fabbrica di vaccini del carbonchio, e se ne assicurò la direzione con l'ausilio dei due provati collaboratori. Tuttavia il governo, agitato dalla crisi del 1882, non ebbe il tempo di dare seguito a questo progetto; la guerra economica nell'Europa centrale era già al suo apice e l'Ungheria sperava di apprendere le tecniche per produrre il vaccino, onde rendere la Germania e la Russia tributarie di quest'industria. Thuillier a tal proposito fu tempestato da domande sul metodo di preparazione del vaccino, che furono puntualmente eluse; lo stesso Pasteur scrisse una lettera a riguardo:

Il vaccino dev'essere preparato a Parigi e non si può divulgare il procedimento, la missione di Thuillier sarà quella di effettuare alcune sedute per le dimostrazioni sulla vaccinazione collettiva. E' già un privilegio per gli ungheresi essere la seconda nazione al mondo a beneficiare dei risultati della

¹⁷ Ch. Nicolle, *Biologie de l'invention*, Paris, 1932, p. 64.

¹⁸ Al Congresso di Londra è presente anche Robert Koch, uno dei padri della batteriologia moderna in un certo senso "precursore" dello stesso Pasteur nella scoperta della produzione di spore da parte della bactérie charbonneuse. Pasteur che conosce le riserve critiche di Koch al suo metodo d'attenuazione, lo invita sulla tribuna a prendere la parola, Koch risponde che preferisce ribadire le sue critiche per iscritto. In effetti, alla fine del 1881 viene pubblicata una lettera per Pasteur sottoscritta da Koch e dai suoi allievi. In quest'opera un allievo di Koch, il Dott. Loeffler, scrive testualmente: «*La fameuse expérience de Pouilly-le-Fort dont le résultat a été surprenant est accueillie avec réserve, non sans raison. Et, en effet, la base de la découverte de Pasteur est que le bacillus anthracis ne produit plus de spores à 42-43° dans le bouillon neutralisé de poulet. Or, Koch a démontré qu'il fournît des spores tout aussi vigoureusement à 43°, condition de le cultiver à plat, au lieu de le cultiver en profondeur dans les ballons*».

tecnica. Non se ne parla neanche a lasciare che si sviluppi un'industria locale selvaggia¹⁹.

Finalmente le iniezioni vacciniche previste furono praticate, una a Pest ed una a Kapuvar e la seconda inoculazione ebbe luogo davanti alla stampa; fu un successo totale. I giornali ungheresi fecero molti elogi e perfino un proprietario locale di bestiame chiese a Thuillier di vaccinarli 15000 pecore. Pasteur ufficialmente ringraziato dall'impero Austro-ungarico, si propose alla Russia l'identico e più che provato esperimento, ma l'allievo di Koch, Loeffler, che consacrò la sua vita allo studio della tubercolosi e della pneumologia, dichiarò in un memoriale:

il famoso esperimento di Pouilly-le-Fort, il cui risultato è stato sorprendente, è stato accolto con riserva non senza ragione. Koch non ha dimostrato che nelle condizioni di preparazione del vaccino le spore carbonchiose vivono, non attenuate, ma ancora vigorose?²⁰.

Pasteur era pronto ad una controprova, ma quando la Scuola Veterinaria di Berlino chiese che le si facesse pervenire il vaccino di rue d'Ulm, rifiutò. Pasteur volle invece un esperimento pubblico e fece giungere il vaccino tramite la via diplomatica temendo le indiscrezioni della dogana; l'esperimento aveva lo scopo di convincere gli scettici scienziati tedeschi, in particolare Koch e gli obiettivi dell'équipe francese furono raggiunti.

Lo stesso Koch riconobbe che anche i suoi esperimenti sul carbonchio non davano la certezza che a provocare la malattia fossero quegli specifici bacilli.

Come Pasteur, Koch menzionò il carbonchio in articoli pubblicati fra il 1876 ed il 1880, mentre la sua unica discussione pubblica sulla malattia avvenne alla fine del '78; nell'81, apparve una seconda importante pubblicazione sul carbonchio, con la minuziosa critica al lavoro di Pasteur: secondo Koch, le ricerche di Pasteur non avevano apportato che un minimo contributo alla determinazione dell'eziologia della malattia, «Solo qualcosa di ciò che credeva Pasteur sul carbonchio era nuovo, ed era anche

¹⁹ P. Debrè, *Louis Pasteur*, Flammarion, Parigi, 1994, p. 430.

²⁰ *Ibid.*, p. 431.

erroneo»²¹.

Koch accusò lo scienziato francese di confondere il bacillo dell'antrace con altri organismi simili e affermò che probabilmente Pasteur non aveva mai osservato il carbonchio in presenza d'altre malattie; criticò i vari esperimenti ritenendoli non validi e ridicolizzò i lavori pasteuriani sui polli ed i lombrichi.

Nello stesso anno, al *VII Congresso Internazionale di Medicina* di Londra, Lister, il chirurgo cui si deve la tecnica dell'antisepsi, chiese a Koch di dimostrare la sua *tecnica di coltura in vitro*, una volta eseguita, esclamò: «C'est un grand progrès, Monsieur ».

In quella occasione Pasteur, all'apice della carriera, aveva già ottenuto significativi risultati sulla fermentazione, nella generazione spontanea, nelle malattie del baco da seta e condotto specifici esperimenti sul bacillo del carbonchio.

A Londra, Pasteur parlò della scoperta dell'attenuazione del batterio del colera dei polli e della sua importanza per l'intero processo di vaccinazione. Il giovane Koch, invece, argomentò dei lavori sul carbonchio e sulle infezioni derivanti da ferite. Lister, estimatore di Koch, si prodigò affinché le dimostrazioni della sua coltura in vitro fossero realizzate nel suo laboratorio al *King's College*; e quelle, con la relazione di Koch, tradotte dal Dott. F. Payne del St. Thomas Hospital, divennero l'evento memorabile del Congresso.

Pasteur aveva già commentato favorevolmente la scoperta fatta dal microbiologo tedesco sulla formazione delle spore carbonchiose in un documento pubblicato nel 1876; ma nella Memoria²² del 1882 nonostante il riconoscimento del ruolo avuto da Koch nell'individuazione delle spore e della loro funzione²³, ricorda di esser stato lui, per la prima volta, negli *Studi sulla malattia dei bachi da seta* ad aver svolto una relazione sull'esistenza delle spore nei vibrioni, provando che la polvere dei germi conservava la sua vitalità ed il suo potere di germinazione per molti anni.

²¹ K. C. Carter, *ibid.*, p. 52.

²² Pasteur L., *La vaccination charbonneuse. Réponse a un Mémoire de M. Koch*, Revue scientifique, n. 20 gennaio 1883, 3ª serie, V, Baillière & C., Paris 1883.

²³ Pasteur ne *La vaccination charbonneuse*, così si esprime sui lavori di Koch: «Ecco come ne ho parlato, il 30 aprile 1877, davanti all'Accademia delle Scienze: In una dissertazione notevole, il Dottor Koch ha constatato che i piccoli corpi filiformi scoperti dal signor Davaine possono passare allo stato di corpuscoli brillanti dopo essersi riprodotti per scissione, poi riassorbirsi.... E più sotto, aggiungevo: "Bisogna pensare che questi corpuscoli possono sopravvivere da un anno all'altro senza morire, pronti a propagandare il male; è l'opinione del dottor Koch". Voi vedete, signore, che sono stato il primo a riconoscere il merito del vostro lavoro sulle spore del bacillo del carbonchio e l'utilità della conoscenza di queste spore per l'eziologia del carbonchio».

Pasteur continua a sostenere con la disamina sulle spore del carbonchio anche la sua “paternità”

Tuttavia, se voi volete rapportarvi al primo volume dei miei *Studi sulla malattia dei bachi da seta*, voi vedrete, nelle pp. 168, 228, 256, che la priorità della scoperta della formazione delle spore in un bacillo patogeno mi appartiene, che ho descritto e raffigurato questo bacillo, che ho indicato la formazione delle spore come la risoluzione della materia circostante dei filamenti, che infine ho dimostrato che queste spore o cisti potevano rigenerarsi parecchi anni dopo la loro formazione. Perché signore avete nascosto tutto questo ai lettori della vostra prima dissertazione? Direte che ignoraste l'esistenza della mia Opera sulla malattia dei bachi da seta che è apparsa nel 1869-70? La vostra asserzione sarebbe senza importanza; perché, in fatto di scienza, si presume che nessuno debba ignorare una scoperta; ma dopo il 1877, quante occasioni avete avuto per ritornare su questi fatti! Vi siete ostinato a non parlarne, per non dover riconoscere che il vostro studio sul bacillo del carbonchio doveva essere considerato, malgrado il suo proprio merito, come una nuova applicazione dei principi anteriori che avevo stabilito. Riassumendo, non siete voi, signore, ad aver trovato il modo di riproduzione dei bacilli e vibrioni attraverso le spore; non siete voi ad aver segnalato il loro curioso modo di formarsi; non siete voi ad aver riconosciuto la loro conservazione allo stato di polvere e la lunga durata della loro vitalità. La precisione con la quale ho descritto e raffigurato la formazione di queste cisti, corpuscoli - germi, spore è tale che voi avreste potuto limitarvi ad un ricalco della tavola che la rappresenta alla pag. 228, della mia Opera, per introdurla nella vostra dissertazione del 1876, e utilizzarla per ciò che avete detto del bacillo carbonchioso²⁴.

²⁴ Pasteur L., *La vaccination charbonneuse*, *ibid.*, p. 424.

E più avanti nella stessa Opera, ribadisce alcune fasi della sua scoperta

Oggi, nel momento in cui rivedo nella mia mente tutte le prove che sono state prodotte per dimostrare che il bacillo del carbonchio è l'unica causa del carbonchio, forse una sola di queste prove non lascia spazio al minimo dubbio, è ciò che risulta da un'esperienza che abbiamo fatto nelle cantine dell'Osservatorio. E' consistita nell'abbandonare alla temperatura costante di questi scantinati, per qualche giorno, in un tubo di prova un po' conico, sospeso verticalmente, una coltura virulenta del parassita del carbonchio. In queste condizioni, i filamenti e le spore di questo parassita cadono a poco a poco in fondo al liquido che si è avuto cura di scegliere di una limpidezza ineccepibile. Dopo, si inoculò simultaneamente il liquido degli strati superiori per compararli con quelli degli strati profondi, e fu constatato che il primo era inoffensivo, mentre, il secondo causava la morte per carbonchio²⁵.

Il maestro francese proseguì nella polemica commentando sfavorevolmente i lavori sul carbonchio di Koch, che alcuni mesi alcuni più tardi, fece pubblicare a Londra il primo volume del *Mittheilungen aus dem Kaiserlichem Gesundheitsamt*. A completamento di quest'opera sulla tecnica della coltura in vitro, apparvero documenti di Koch, Gaffky e Loeffler nei quali si sferrava un duro attacco all'indirizzo di Pasteur. Koch non si limitò a criticare aspramente i lavori sull'attenuazione dell'agente patogeno del colera dei polli, descritto a Londra, ma contestò drasticamente anche tutto il suo operato, e in modo particolare, le sue opinioni sul carbonchio, accusandolo di aver utilizzato colture impure e commesso errori nell'inoculazione:

«C'è poco sull'eziologia del carbonchio, e ciò che è nuovo è sbagliato, tutto il lavoro che ha condotto sul carbonchio non ha alcun valore»²⁶, disse.

Koch inoltre, come riporta lo stesso Pasteur nella Memoria *De l'attenuation des*

²⁵ *Ibid.*, p. 432.

²⁶ K. C. Carter, *ibid.*, p. 54.

virus, critica anche gli studi di Pasteur sulla setticemia:

... Questo vibrione è isolato, studiato nelle sue proprietà e dimostrato *anaerobico*, coltivato allo stato puro in colture successive con l'aiuto del vuoto, attenuato o privato della sua virulenza ed il dottor Koch non ha paura di scrivere che «Pasteur non ha mai avuto davanti ai suoi occhi la setticemia infettiva in questa forma non complessa», quando noi abbiamo dato i mezzi infallibili per avere la malattia e proposto [in più], per separare il vibrione settico dal batterio carbonchioso, questo processo così semplice, seminare il sangue che racchiude questi due microbi: il 1° nel vuoto; il 2° a contatto dell'aria. Nel primo caso si raccolgono i vibrioni settici puri, perché è anaerobico; nel secondo caso, il batterio si moltiplica da solo perché è esclusivamente aerobico. Contrariamente al vero, Koch pretende che, per ottenere questa malattia, io inietto una o più siringhe di liquido putrido, modo di operare del quale non mi sono mai servito in alcuna delle mie ricerche. C'è da credere che il dottor Koch non abbia letto le mie Comunicazioni che nei travestimenti di Colin d'Alfort. Su cosa possa ancora appoggiarsi Koch per criticare la parola *setticemia* e sostituirla con quella di *edema maligno*, denominazione imperdonabile per questo soggetto poiché ognuno, in Francia, sa che l'espressione *edema maligno* designa una delle forme del carbonchio nell'uomo? Non sarebbe conveniente, da parte sua, lasciare per una malattia, che è appena stata nettamente caratterizzata, il nome dato da colui al quale si deve la conoscenza delle proprietà fondamentali del microbo che l'ha generata?²⁷

La critica si fa anche più mirata sulla tesi che i lombrichi possano effettuare il trasporto delle spore carbonchiose attraverso il terreno e i collaboratori del medico tedesco, Loeffler e Gaffky, furono anche più scortesii nei loro articoli pubblicati nel

²⁷ Pasteur L., De l'attenuation des virus. [Avec la collaboration de MM. Chamberland, Roux et Thuillier], Revue scientifique, 3^a serie, IV, 16 settembre 1882, p. 408.

volume del *Mittheilungen*, soprattutto, quando furono informati dell'esperimento di Pouilly-le-Fort di Pasteur. Le argomentazioni della controversia tra l'équipe di Koch e quella pasteuriana riguardarono anche la validità del metodo d'attenuazione elaborato da Pasteur: per attenuare la coltura carbonchiosa, Pasteur aveva sottoposto l'organismo ad una temperatura di 43° con lo scopo di prevenire la formazione di spore; l'implicazione era che una coltura asporulenta potesse essere attenuata; tuttavia, Koch dimostrò che le spore si formavano anche alla medesima temperatura se coltivate in vitro, ma Pasteur non impiegava codesta metodologia. Koch e collaboratori, in sostanza, affermavano che il successo ottenuto dal medico d'oltralpe nell'esperimento di Pouilly-le-Fort, era infondato. Pasteur ricevette comunicazione dell'attacco il 2 febbraio '82; sulla rivista *Revue d'hygiène et de police sanitaire*, che scatenò vibrante proteste nei circoli scientifici francesi.

La controversia era scoppiata e Pasteur rispose alle critiche facendo pubblicare in Germania, testi stilati dal giovane e fidato assistente, Thuillier e Pasteur controbatté organizzando un esperimento pubblico proprio in Germania. La dimostrazione fu resa possibile grazie alla disponibilità di Roloff, medico della Scuola Veterinaria di Berlino, che sollecitò l'applicazione dei modelli sperimentali pasteuriani. Roloff ottenne il permesso dal Ministero dell'Agricoltura di Prussia e Thuillier condusse l'esperimento; fu costituita una commissione speciale composta dal: Prof. Muller della Scuola Veterinaria, da Mr. Beyer, Consigliere privato del Ministro dell'Agricoltura, R. Virchow e da due grandi proprietari terrieri, uno dei quali membro del Parlamento, per valutare l'efficacia del metodo.

L'allievo assistente di Pasteur eseguì la prima inoculazione su pecore in una proprietà terriera a circa 150 Km. dalla capitale; l'esperimento non fu positivo ma, attribuito il fallimento all'uso di diverse razze, Pasteur ne chiese un secondo, e i proprietari terrieri ebbero modo di apprezzare l'esito felice della prova; richiesero così il vaccino per i loro capi di bestiame, allo stesso titolo prescritto per uso commerciale in Francia.

Pasteur, durante il *IV Congresso internazionale d'igiene e demografia* tenutosi a Ginevra dal 5 al 9 settembre 1882, riprese il tema dell'attenuazione dei virus, e per ottenere una definitiva vittoria sul concorrente tedesco, desideroso di una risposta ufficiale da parte di Koch davanti a tutti i rappresentanti dei paesi riuniti, si era ritirato ad Arbois per preparare meticolosamente il discorso. Quando l'eminente scienziato salì in tribuna

ricevette molti applausi. È uno dei primi oratori a intervenire, parla dell'attenuazione dei microbi del colera dei polli e del carbonchio, ricorda i risultati trionfanti dei suoi esperimenti

ma eclatante che sia la verità dimostrata, essa non ha mai il privilegio di essere facilmente accettata. Ho incontrato in Francia e all'estero dei contraddittori ostinati²⁸.

e poi direttamente a Koch ed ai suoi allievi

questi insinuano che io non so coltivare i microbi allo stato di purezza, che ignoro il modo per riconoscere i microrganismi e che non si possono giudicare come rigorosi miei lavori... Essi denunciano il metodo d'inoculazione che consiste nell'inoculazione sottocutanea di una o più siringhe di liquido...²⁹.

Pasteur prosegue descrivendo l'esperimento del carbonchio somministrato ai polli, il solo ritenuto utile per abbassare la temperatura dopo l'inoculazione:

il Dottor Koch che non trova niente di notevole in questo esperimento, chiede se i polli raffreddati che hanno preso il carbonchio non siano capaci di contrarlo naturalmente, [...]. Ma si sa, nel pensiero dell'autore ciò che mi ha potuto indurre in errore? È che l'alterazione delle colture comincerà con la vaccinazione [...]. Koch non crede che io abbia operato come gli ho detto, su 80 polli, in alcuni dei miei esperimenti perché avrei speso molti soldi. E' vero per stabilire il grande fatto dell'attenuazione della virulenza, lo Stato non mi ha fatto badare a spese³⁰.

Durante il Congresso, Koch siede in platea godendosi il momento di gloria per la scoperta, nel maggio precedente, del bacillo della tubercolosi e al termine del discorso

²⁸Pasteur L., *De l'attenuation des virus, ibid.*, p. 433.

²⁹Debré P., *ibid.*, p. 204.

³⁰Pasteur L., *De l'attenuation des virus, ibid.*, p. 433.

di Pasteur, chiede di rispondere, la replica, riportata fedelmente riportata nel Proceedings, fu tradotta simultaneamente da Haltenhoff:

Quando vidi nel programma del Congresso che Pasteur avrebbe parlato sul metodo d'attenuazione del virus, attesi ardentemente il meeting sperando di sentire qualcosa di nuovo su quest'interessante materia. Confesso di essere rimasto deluso, non c'è nulla di nuovo nel discorso che Pasteur ha appena fatto. Non credo sia utile rispondere in questa sede all'attacco che Pasteur mi ha sferrato per due ragioni:

1°) perché i punti di discordia fra Pasteur e me si riferiscono solo indirettamente alla materia d'igiene;

2°) perché io non parlo bene il francese e Pasteur non parla il tedesco;

Così non potendo dialogare, risponderò sulle pagine del giornale medico³¹.

Pasteur replica che, se avesse seguito la lezione, avrebbe facilmente capito che il nuovo materiale era stato appena presentato. Il microbiologo francese attenderà la risposta personale di Koch riservandosi di rispondergli subito; in una lettera ad E. Roux dell'8 settembre 1882, dichiarerà che Koch si era reso ridicolo e in una successiva epistola due settimane dopo, riprenderà la critica al comportamento tenuto da Koch al Congresso, affermerà

«... Un trionfo per la Francia, questo era tutto ciò che volevo»³².

Secondo H.H. Mollaret³³, storico della scienza, la controversia sorta a Ginevra tra i due eminenti scienziati fu causata essenzialmente da problemi di lingua: Koch poteva leggere in francese ma era incapace di parlarlo e capirlo bene. Durante il suo discorso Pasteur ebbe l'occasione di citare alcune pubblicazioni di Koch, come: *Recueil allemand* che significa collezione o raccolta di lavori in tedesco. Koch chiese aiuto per le traduzioni al Prof. Licteim, che insegnava tedesco a Berna, ma entrambi confusero il

³¹Pasteur L., *De l'attenuation des virus. Quatrième Congrès International d'Hygiène et de Démographie*, Genève, Vol. I, p. 145.

³²Vallery-Radot, *Pasteur Correspondence*, Flammarion, Parigi, p. 314.

³³H.H. Mollaret, *Contribution à la connaissance des relations entre Koch et Pasteur*, Ntm-Schriftenr Gesch Naturwis, Technik, Med. Leipzig 20: 57-65, 1983.

termine *recueil* con *orgueil*. Il medico tedesco si offese per questo presunto attacco alla nazione tedesca; Koch tentò di interrompere Pasteur, protestando, ma quest'ultimo irritato lo zittì. Koch, in uno scritto, *Über die Milzbrandimpfung. Eine Entgegnung auf den von Pasteur in Genf gehaltenen Vortrag*³⁴, rispose al suo avversario da Ginevra, attaccandolo con ulteriore animosità

Io che ero membro del Congresso non volli perdere questa importante sessione perché ero certo che avrei potuto imparare importanti concetti riguardanti la tecnica di Pasteur per l'attuazione del bacillo carbonchioso, ma nulla di questo ho sentito in questa sede.

Tutto ciò che ho sentito erano nuove cose sul colera dei polli e alcuni dettagli sulla rabbia; a proposito dell'inoculazione contro il carbonchio, tutto quello che ho potuto sentire è qualche dato completo su quante migliaia d'animali sono stati inoculati³⁵

Koch continuò nella dura critica rimarcando di aver sentito solamente, una comunicazione, apparentemente nuova, su un parassita che Pasteur aveva scoperto causa della febbre da tifo dei cavalli. Koch volle precisare quali fossero le ragioni che si frapponavano tra lui e Pasteur:

... non è stato ancora dimostrato che le malattie infettive vengano condizionate da microrganismi parassitari e perciò, in ogni singolo caso, deve essere fornita la prova del carattere parassitario della malattia. Il primo passo verso questa prova è rappresentato dall'attento esame di tutte le parti del corpo modificate dalla malattia, per accertare la presenza di parassiti, la loro distribuzione negli organi infetti e i loro rapporti verso i tessuti del corpo. Ovviamente, per questa analisi, sono da mettere in pratica tutti gli ausili offerti dalla tecnica microscopica moderna. Sono i tessuti e i loro liquidi, sangue, linfa, ecc, freschi con, o senza reagenti, ad essere esaminati microscopicamente,

³⁴ R. Koch, *Über die Milzbrandimpfung. Eine Entgegnung auf den von Pasteur in Genf gehaltenen Vortrag. Von Dr. R. Koch, Geh. Regierungsrat*, Thieme G., Lipsia, 1882.

³⁵ R. Koch, *Über die Milzbrandimpfung.*, *ibid.*, p. 207.

devono poi essere asciugati al vetrino di copertura e trattati con le diverse tecniche di colorazione; gli oggetti induriti sono da scomporre in sottili tagli, tramite il microtomo, anch'essi da colorare e, i preparati microscopici così ottenuti, da sottoporre ad un accurato esame microscopico, con l'utilizzo di metodi di illuminazione appropriati e con i migliori sistemi di lenti. Solamente dopo che, in questo modo, se ne abbia acquisito un adeguato orientamento, cioè se i microrganismi sono presenti nelle parti infette, in quali punti li si incontra in totale purezza, ad esempio polmoni, milza, sangue, si può provare a fornire la prova che questi microrganismi sono di natura patogena e, specialmente, che rappresentano la causa della malattia posta in domanda. A tale scopo, sono da allevare allo stato puro e, se in tale modo risultano liberati da tutte le componenti originarie del corpo malato, si deve vaccinare possibilmente di nuovo la stessa specie animale, nella quale fu osservata la malattia, o anche certi animali in cui la malattia in questione presenta sintomi, per esperienza, inconfondibili. Per chiarire il tutto con un esempio, rievoco la tubercolosi. Prima di tutto venne stabilito, tramite analisi microscopiche, che negli organi infetti si presentano bacilli fortemente caratterizzati dalle reazioni dei colori; in seguito questi bacilli furono isolati allo stato puro, mentre si concluse in quei punti, nei quali non si mischiarono con altri batteri e non si presentarono, da questi contaminati; infine, venne generata nuovamente la tubercolosi tramite la rivaccinazione allo stato puro su animali, il più possibile numerosi, delle specie più varie, la cui predisposizione a questa malattia sia nota. Un altro esempio molto formativo è rappresentato dall'erisipela dell'uomo. Si sapeva da tanto tempo che, per questa malattia, nei vasi linfatici cutanei si trovano costantemente micrococchi. Con ciò, tuttavia, non fu ancora dimostrato che, quest'ultimi, sono causa dell'erisipela. Però, dopo che da poco, a Fehleisen è riuscito, da parti di pelle in eccesso dei malati di erisipela, di allevare quei micrococchi allo stato puro, con massima cautela contro una contaminazione da altri batteri depositati casualmente

sulla superficie cutanea, e di richiamare sull'uomo stesso una tipica erisipela tramite l'inoculazione degli stessi micrococchi, non rimane più nessun dubbio sul fatto che, i micrococchi sono in realtà la causa dell'erisipela e che, quest'ultima, sia da osservare come una malattia parassitaria³⁶.

Secondo Koch, Pasteur si discostava notevolmente da questa prassi:

Innanzitutto, Pasteur parte dalla convinzione che, tutte le malattie infettive sono malattie parassitarie, condizionate da microbi e pare che non ritenga necessaria la prima delle condizioni da me formulate, cioè la prova dei microrganismi e l'orientamento sulla loro comparsa nel corpo. Infatti, Pasteur non fornisce, ad esempio, nessuna indicazione precisa sul fatto, se nella sua analisi della malattia da lui definita "nouvelle maladie de la rage", gli organi del bambino morto di rabbia, il quale gli servì come punto di partenza per i suoi tentativi di infezione, e soprattutto le sue ghiandole sub-linguali, siano stati esaminati microscopicamente alla presenza di microbi specifici. Proprio in questo caso sarebbe stata indispensabile una tale analisi, poiché è noto che, in caso di rabbia, le ghiandole sub-linguali contengano la sostanza infetta e che i presunti microbi, poiché il tessuto delle ghiandole sub-linguali non è di norma la sede dei batteri, siano da incontrare qui sicuramente in piena purezza. Mentre Pasteur provò a trasferire la malattia della rabbia dalla salma di tale bambino agli animali, utilizzò però come sostanza inoculante non il tessuto delle ghiandole sub-linguali, bensì la saliva stessa, la quale è noto che contenga un'infinità di batteri e, come hanno constatato anche Vulpian (Bollettino dell'Accademia, 29 marzo 1881) e Steinberg (National board of Health, Bollettino del 30 aprile 1881), persino dei batteri patogeni nell'individuo sano. Allo stesso modo, Pasteur procede con la cosiddetta febbre tifica dei cavalli. Egli non analizza i rigonfiamenti endemici della pelle e dell'intestino, nemmeno la milza ingrossata; non apprendiamo

³⁶ *Ibid.*, p. 208.

nemmeno se, nel sangue degli animali malati o appena deceduti, siano presenti microbi caratteristici. Pasteur si limita a inoculare il muco che, fuoriuscente dal naso di un animale morto, è indubbiamente contaminato da tanti altri batteri, allo stesso modo della saliva³⁷.

Koch continua la sua dissertazione allargando la polemica all'intera pratica vaccinatoria messa in opera dallo scienziato francese; si rifà agli studi sul colera dei polli, sottolineando il fatto che questi lavori furono eseguiti in precedenza dal Perroncito e dal Toussaint; contesta la correttezza sugli studi della rabbia e sul tifo dei cavalli.

Secondo Koch gli studi eseguiti da Pasteur erano imprecisi e non davano prova di risultati attendibili a causa dell'imperfezione nell'analisi microscopica dell'inoculazione di sostanze impure e dell'utilizzo di cavie non adatte.

Koch mise in discussione anche la modalità di pubblicazione delle ricerche; Pasteur, secondo lo scienziato tedesco, sin dai lavori sul colera dei polli, tenne nascosto per lungo tempo il metodo d'attenuazione, decidendo di renderlo pubblico sotto la pressione di Colin; analogo comportamento assunse per i lavori sul carbonchio. Dopo aver fatto una digressione sui vari studi pasteuriani Koch passò ad analizzare puntualmente gli studi sul carbonchio che li vedeva su tesi contrapposte.

Pasteur arrogò a sé la priorità sull'individuazione dell'eziologia del carbonchio, sebbene non avesse messo in relazione la propagazione della malattia infettiva con la formazione delle spore; inoltre, sottolineò che lo scienziato francese scrisse qualche nota su questa malattia solo nel 1877, mentre Koch aveva pubblicato un articolo l'anno precedente.

Altro punto divergente riguardava il ruolo della temperatura nell'approntare il metodo d'attenuazione: Pasteur pensava che gli animali, a causa della loro elevata temperatura, fossero immuni al carbonchio, pertanto, tramite il raffreddamento potevano contrarre la malattia infettiva; Koch ribadiva l'erroneità dei dati, avendo dimostrato che gli animali reagivano bene al processo vaccinic nonostante

³⁷ *Ibid.*, p. 209.

l'elevata temperatura.

Koch, inoltre, dava altre interpretazioni sull'insorgenza dell'infezione naturale, il medico francese asseriva che le spore si formavano dalle carogne d'animale morte e riaffiorassero in superficie tramite i lombrichi e successivamente andassero a finire nel mangime degli animali, pertanto, secondo Pasteur per contrarre la malattia era indispensabile che gli animali avessero delle lesioni all'apparato digerente o il cibo fosse aculeato per poter ferire gli animali; Koch obiettava, in base ai suoi esperimenti, che i bacilli potevano proliferare indipendentemente dagli animali morti e che l'attività dei lombrichi era superflua nel meccanismo di propagazione.

Infine, nel suo lungo articolo il medico tedesco si soffermava sull'attenuazione del bacillo antracico. Secondo Pasteur per immunizzare i capi di bestiame era necessario sottoporre le colture antraciche alla variabile ossigeno, così come era stato fatto per il colera dei polli, attribuendo un valore generale per l'insieme delle malattie infettive; Koch non accettava questa generalizzazione, sebbene accettasse il metodo testé esclusivamente per vaccinare pecore e bovini.

Koch in un successivo articolo³⁸ cita dettagliatamente i lavori pasteuriani sulle vaccinazioni che effettuate in Francia, nell'intento di rispondere anche alla lettera di Pasteur indirizzata alla Società dei medici di Vienna, nella quale sosteneva che le obiezioni sollevate dalla sua scuola se fossero state confutate con i fatti, avrebbero cambiato la loro opinione».

Koch invece dichiarò di non aver affatto cambiato opinione circa il valore probatorio del metodo vaccinic pasteuriano, riportando i seguenti dati:

... più di 200.000 pecore, che vengono vaccinati annualmente in Francia, presentano l'1% della mortalità di carbonchio mentre, tra i greggi non vaccinati, questa percentuale sale al 10%. Più di 20.000 capi di bovini, vaccinati annualmente, presentano una mortalità di appena lo 0,5% mentre, tra gli animali di questa specie non vaccinati, la mortalità ammonta a circa il 5%.

Da queste cifre pare che risulti che, la vaccinazione anticarbonchio sia di enorme efficacia. Ma chi può garantire

³⁸ Koch R., *Über die Pasteur'schen Milzbrandimpfungen*. Letter published in *Deutsche medizinische Wochenschrift* 13:722. *Gesammelte Werke* 1, 1887.

l'attendibilità di queste cifre? Come, e da chi, sono raccolti i singoli fattori di questo calcolo? Questo se lo chiederà chiunque si occupi di statistica medica.

Noi abbiamo ancora maggior motivo ad essere prudenti, in quanto queste cifre, fino ad oggi, sono rimaste isolate.

La vaccinazione anticarbonchio viene praticata dal 1881 e non solo in Francia. L'interesse così vivo, legato alla questione, e l'abile pubblicità con la quale venne circondato il metodo, hanno portato la sua conoscenza in tutti i posti, in cui il carbonchio è di casa: Italia, Austria-Ungheria, Russia, Germania. Se i risultati fossero dappertutto veramente così favorevoli, come afferma Pasteur, allora ci si dovrebbe meravigliare sul perché, questo metodo, non abbia avuto la stessa diffusione anche qui negli ultimi sei anni, così come in Francia. Ci sono qui in gioco dei significativi interessi materiali e rimase incerto il perché, nell'interesse comune nazionale, non si sia voluto accogliere ovunque il metodo con la stessa disponibilità. Resta comunque il fatto che, in nessuna nazione la vaccinazione anticarbonchio si sia diffusa come in Francia e, né nella letteratura medica né in quella veterinaria, si trova qualche comunicazione su questa situazione.

Per poter ottenere delle indicazioni sicure in questa direzione, per lo meno finché la Germania viene presa in considerazione, ho chiesto al Dott. Schütz, professore nella scuola veterinaria di Berlino, di comunicarmi tutti i dati reperibili, sulle vaccinazioni anticarbonchio in Germania e i loro risultati. Il Professor Schütz ha accolto la mia richiesta nella maniera più affabile e veloce e sono giunto, in piena autonomia, in possesso di documenti completi assolutamente autentici, che rappresentano un materiale probatorio di altissimo valore e di cui comunicherò qui il contenuto. Mi è costato alcune settimane metterli tutti insieme ed è questo il motivo per cui la mia comunicazione odierna ha ritardato un pò:

1. A Gorsleben, nel 1881, furono vaccinati 31 capi di bovini; 3 capi morirono nell'anno successivo (10%). Le

vaccinazioni non furono portate avanti. In seguito, morirono ancora 2 o 3 capi durante l'anno, cioè la stessa quantità rispetto a prima della vaccinazione.

2. A Cannawurf, 1882, ci fu la vaccinazione di 33 capi di bovini. Prima della vaccinazione si perdevano, all'anno, da 1 a 3 capi. Le perdite furono le stesse anche dopo la vaccinazione. Si rinunciò al proseguimento della vaccinazione.

3. A Kelbra furono vaccinati, nel 1886, 64 capi di bovini su 140; 76 rimasero senza vaccinazione. Ognuno dei due gruppi perse un animale per via del carbonchio; le vaccinazioni non furono portate avanti.

4. A Riethnowhausen furono vaccinati, nel 1886, 22 capi di bovini. Un mese dopo, 2 animali morirono di carbonchio.

5. A Klonie, sin dal 1882, vengono vaccinati ogni anno tutti i bovini e le pecore. In base ai dati a mia disposizione, negli ultimi anni, si può presumere, con alcune oscillazioni verso il basso o verso l'alto, una media annua di 270 capi di bovini e di 600 pecore. La mortalità inizialmente oscilla tra l'1 e il 5% (in media 3,4%). Gli animali rivaccinati soccombono ripetutamente al carbonchio. Purtroppo mancano dei dati precisi sulla mortalità prima della vaccinazione.

6. I dati più importanti sono quelli che dobbiamo alle vaccinazioni che, con molta cura ed enorme pazienza, vengono eseguite dal 1882 dal veterinario dipartimentale Oemler, per conto del ministero dell'agricoltura, su dominio di Pakisch. Dal 1882, cioè da 5 anni, viene vaccinato annualmente quasi tutto il gregge, in media 80 capi di bovini e 360 pecore. Eppure il carbonchio uccide in media il 4,2% dei primi e l'1,5% delle ultime. Anche in questo caso, si riscontrano tra le vittime, animali ripetutamente vaccinati. Di fronte a questi risultati, che fecero apparire in maniera così incerta l'efficacia della vaccinazione, negli ultimi due anni si intraprese il seguente esperimento: 100 pecore vaccinate e 100 non vaccinate, che solitamente si trovavano nelle stesse condizioni, furono condotte sui posti di pascolo sospetti. Due delle pecore vaccinate

morirono di carbonchio e, nell'anno seguente, altre due che non furono vaccinate. L'esperimento quindi è fallito in modo persuasivo³⁹.

Koch concludeva il suo articolo affermando che proprio gli esperimenti approntati da Pasteur confermavano pienamente i dubbi: la vaccinazione anticarbonchio non fruttava ciò che comportava in costi e non dava una pratica vaccinica sicura e certa.

I lavori di Pasteur effettivamente, inizialmente, non diedero risultati eclatanti, lo stesso Pasteur l'8 giugno durante una seduta della Società centrale di medicina veterinaria aveva affrontato questi problemi, ravvisando la causa dei mancati successi nella progressiva perdita di virulenza della sostanza inoculante originariamente coltivata e i vaccini prodotti nell'inverno e fino a marzo, sarebbero stato per conseguenza troppo deboli.

Koch con esperimenti di altro tipo raggiunse conclusioni divergenti rispetto a quelle dello scienziato francese: nutriti numerosi capi di bestiame con milza priva di spore, questi rimasero sani; mentre animali nutriti con cibo contenente spore, perirono pochi giorni dopo di carbonchio. L'interpretazione che Koch diede a questi risultati fu che i bacilli dell'antrace soccombevano a causa della composizione acida dello stomaco mentre le spore, restando integre, si riproducevano nella mucosa del canale intestinale, provocando la malattia.

Koch, insomma non rifiutava del tutto il metodo di vaccinazione scoperto da Pasteur, ma lo riteneva scarsamente utilizzabile su vasta scala a causa dell'insufficiente durata immunitaria.

Nello stesso scritto Koch offre altri rilievi degni di nota; infatti, come altri scienziati, attribuisce al veterinario di Tolosa, Henri Toussaint, il primato nell'aver attenuato le colture carbonchiose, oltre al trattamento con il riscaldamento alla temperatura di 55° circa con l'aggiunta di acido fenico. Il grande errore del veterinario fu di presumere di rimuovere i bacilli del carbonchio dal sangue e ucciderli, mentre a Pasteur andava attribuito il giusto riconoscimento di aver fornito la prova che i bacilli del carbonchio potevano essere attenuati, a particolari condizioni, facendogli perdere le caratteristiche patogene, ma senza modificarli morfologicamente.

³⁹ Koch R., *Über die Pasteur'schen Milzbrandimpfungen*, *ibid.*, p. 273.

Koch, riconoscendo il merito di Pasteur per il metodo approntato, volle ribadire soprattutto il contributo che Toussaint diede alla scienza, facendo sue le parole di Bouley, il più fervente sostenitore di Pasteur, durante la seduta dell'Accademia dell'8 marzo 1881:

Sostengo che M. Toussaint abbia il merito di aver dimostrato, con un procedimento che gli appartiene, che il bacillo di carbonchio possa essere trasformato in bacillo inoculante contro se stesso. M. Toussaint è l'inventore del metodo di cui si è servito, [...] ha risolto scientificamente il problema dell'attenuazione del bacillo del carbonchio e della sua trasformazione in bacillo inoculabile⁴⁰.

La dichiarazione di Koch mise in discussione non solo la paternità dell'intero impianto teorico e pratico costruito da Pasteur, ma si spinse oltre affermando che lo scienziato francese nello studio di una malattia ignorava la ricerca microbica, e trascurava, in ogni caso, la dimostrazione del carattere parassitario della stessa.

Pasteur si sentì costretto a replicare

... tutto lo scritto che precede, signore, forse vi permetterà di comprendere che, se non sono né medico né veterinario, come a voi piace ricordare, tuttavia si è d'accordo, in Inghilterra e in Germania come in Francia, nel riconoscere la grande parte d'iniziativa che ho avuto nelle dottrine eziologiche attuali.

Voi signore, che siete entrato nella scienza solamente nel 1876, dopo tutti i grandi uomini che ho citato, potete riconoscere senza deroghe di essere un debitore della scienza francese⁴¹.

Pasteur, portò a sua difesa le molte personalità dell'area scientifica, tra le quali l'insigne scienziato P. Bert che, ritenevano il lavoro di Koch inconcludente, rimanendo invece persuasi dal suo.

Koch senza indugi si propose con un altro lungo e polemico attacco, questa volta focalizzando l'attenzione sul programma d'inoculazione di Pasteur. Nel corso delle sue

⁴⁰ R. Koch, *ibid.*, p. 228.

⁴¹ L. Pasteur, *La vaccination charbonneuse.*, *ibid.*, p. 430.

argomentazioni insinuò che lo scienziato francese stesse falsando i risultati dei suoi esperimenti sull'inoculazione. All'inizio dell'articolo lo scienziato tedesco illustrò le differenze di metodo e proseguì dichiarando di essere stato il primo ad intraprendere indagini complete sui tessuti malati del corpo, allo scopo di testare la propagazione dei batteri e che fu proprio lui, e non Pasteur, a usare la strategia d'isolamento e inoculazione, ribadendo la correttezza del suo metodo negli standard scientifici correnti.

Pasteur gli rispose con un saggio a forma di lettera aperta; esprime stupore per la violenza con la quale veniva attaccato da Koch e dai suoi collaboratori, passò in rassegna i suoi contributi apportati alla medicina e alla scienza in generale e menzionò gli eminenti scienziati, inclusi Davaine e Lister, che avevano basato i loro studi sull'intero suo lavoro; descrisse le fasi storiche dello studio del carbonchio e dichiara, dunque, di essere stato il primo a delinearne la causalità, ammettendo tuttavia contestualmente che Koch fu il primo ad identificarne le spore e concluse riesaminando autocriticamente le circostanze scientifiche della sua argomentazione.

Ancora nell'84 Koch, insieme ai collaboratori Gaffky e Loeffler pubblicherà una lunga e dettagliata critica dei risultati, ritenuti non validi, di Pasteur nell'Opera «*Studii sperimentali sull'attenuazione artificiale dei bacilli del carbonchio e sull'infezione carbonchiosa per mezzo del foraggio*». Koch qui riferì di essersi procurato da Boutroux una piccola quantità del vaccino Pasteur: l'esperienza che ne derivò fu che dei 6 pecore inoculati uno morì; dedusse che, malgrado, il piccolo numero di animali inoculati e l'accuratezza dell'esperimento, il vaccino non aveva garantito per tutte le pecore un'immunità certa.

Inoltre, lo scienziato tedesco, riguardo alla obiettiva questione del ritorno progressivo alla virulenza, secondo il metodo utilizzato da Pasteur ritenne che fosse ancora aperta, come quella relativa all'infezione carbonchiosa contratta naturalmente. Koch tuttavia confermò i risultati pasteuriani circa l'assoluta innocuità dei bacilli assorbiti per le vie digerenti, mentre, se quest'ultimi non attenuati contenevano spore, il risultato immunitario si presentava completamente diverso; dimostrò che le spore non venivano distrutte nello stomaco dell'animale, che invece si sviluppavano nell'intestino, penetrando nei tessuti attraverso la mucosa del canale intestinale; agli effetti della ricerca di verifica l'introduzione nell'intestino di forti dosi di spore carbonchiose restò il miglior mezzo per controllare l'immunità degli animali preventivamente vaccinati per

mezzo di colture.

Circa la causalità patogenetica, va rilevata una certa ironica aporia nei cosiddetti Postulati di Koch, poiché se essi consistono nell'operazione dell'isolamento e della successiva inoculazione, allora sia Pasteur sia (E. Klebs) usarono molto prima di Koch e in campo più vasto tale metodologia. Se Koch e Pasteur abbiano provato che il bacillo dell'antrace fosse la causa del carbonchio, la risposta dipende, in parte, dalla concezione di causalità predisposta. Ma su un livello di considerazione ancor più generale, meno personalistico e più accreditato oggi i lavori non appaiono più antagonistici ma complementari; nelle loro ricerche sul carbonchio, entrambi apportarono importanti prove empiriche sulla causalità con prove di tipo differente. Grazie a quelle dimostrazioni causali, (quella sul carbonchio e sulla tubercolosi), la teoria dei germi si consolidò, aprendo la strada alla successiva ricerca.

III. Fonti, scienziati, aspetti e querelle sul vaccino contro il carbonchio

Henry Toussaint (1847-1890), si diploma alla Scuola veterinaria di Lione nel 1869, nel '71 fu nominato responsabile del Servizio di anatomia e fisiologia presso la predetta Scuola veterinaria, accanto al suo maestro Chauveau. Nel '76, vince il concorso alla Scuola di Tolosa, per la cattedra di Anatomia, fisiologia e zoologia elementare, con la seguente menzione: «Toussaint possiede vaste conoscenze; ha un metodo, espone in modo chiaro, ha esperienza sia nelle preparazioni anatomiche e istologiche sia nella loro dimostrazione; da tutti i punti di vista è all'altezza del mandato di cui è stato incaricato».

Nell'agosto del '77 consegue, alla Facoltà di Scienze di Lione, il dottorato in Scienze naturali; tra i componenti esaminatori del Collegio troviamo: Duclaux, il cognato di Pasteur Loir, Roulin, tutti allievi di Pasteur. Poco dopo, il 13 agosto pubblica una Nota «Sulle battericemie carbonchiose».

L'anno successivo, nella stessa Facoltà si addottora in medicina con la tesi «Ricerche sperimentali sulla malattia carbonchiosa».

Il suo amico Bouley in merito alla sua attività affermò: «... essa ci dà una forte dimostrazione di ciò che il metodo sperimentale può fare per il chiarimento dei fatti della patologia». In seguito a questo successo Toussaint con un decreto del '78, fu delegato alla cattedra di Fisiologia della Scuola di medicina e di farmacia di Tolosa.

Nel '79 si dedicò a redigere una analitica Memoria «Sulle battericemie carbonchiose, sulle loro caratteristiche morfologiche, sulle modalità di sviluppo, sulle lesioni che determinano. Sui sintomi che traducono nelle loro migrazioni e sulla loro propagazione nel corpo degli animali».

Nello stesso anno, il 12 luglio produsse un nuovo lavoro sul carbonchio «Sulla immunità del carbonchio acquisita in seguito ad inoculazioni preventive».

I riconoscimenti per il lavori intrapresi non mancarono se, nel febbraio 1880, l'Accademia reale di Agricoltura di Torino gli conferì il Diploma di membro straniero; nell''81 pubblicò una nota «Su un nuovo procedimento di vaccinazione del colera dei polli» e presentò dinnanzi all'Accademia delle Scienze quattro importanti studi sulla tubercolosi e sul metodo di propagarsi.

L'anno successivo presenta la Memoria «Sull'inoculazione come mezzo di profilassi contro il carbonchio ed il colera dei polli»; che fu sottoposta al vaglio di Pasteur e Vulpian.

Gli esperimenti di Toussaint sulla malattia carbonchiosa risalgono al 31 marzo 1875, quando sollecitato da Chauveau, analizzò due flaconi contenenti la milza di una pecora morta di carbonchio.

A partire dal 1877, Toussaint riprese i lavori di Davaine con numerose comunicazioni all'Accademia delle Scienze sui batteri carbonchiosi e condensò il tutto in una tesi, presentata alla Facoltà di Medicina di Lione, nel 1879.

Prima di analizzare i lavori del Toussaint sul carbonchio è utile fare una sintesi degli studi che furono intrapresi da Davaine sulla malattia carbonchiosa, lavori che ben conosceva Toussaint.

Nel 1850, Rayer¹ fu chiamato presso il dipartimento di Eure-et-Loir per studiare la malattia del carbonchio, endemica in quelle terre, portando con sé il suo collaboratore Davaine.

Essi poterono dimostrare che il sangue infetto poteva trasmettere la malattia da un animale ad un altro della stessa specie e osservando il sangue carbonchioso al microscopio, scoprirono una grande quantità di piccoli corpi immobili in forma di bacchetta o bastoncini.

Inoculati alcuni animali col sangue carbonchioso, constatarono che il loro ammalarsi sempre rivelava la presenza dei caratteristici batteri; pertanto, Davaine suppose correttamente che quest'ultimi fossero la causa della malattia.

Nel 1863, Davaine poté riprendere le sue osservazioni grazie all'opportunità che ebbe di utilizzare un laboratorio; cercò a 13 anni dalle prime ricerche effettuate con Rayer, di dimostrare la correlazione oggettiva tra la presenza di specifici batteri, definiti da lui, «infusori filiformi» e l'insorgenza della malattia carbonchiosa.

I lavori svolti furono presentati ufficialmente all'Accademia delle Scienze e alla Società di biologia, di cui era socio e, resi pubblici.

¹ Rayer P. (1793-1893), medico d'ospedale nel 1824, lavorò l'anno successivo al Saint-Antoine e alla Charité. Fu medico personale del Presidente della Repubblica Louis Napoleon Bonaparte, futuro Napoleone III; nel 1862 ebbe la cattedra di patologia comparata. Nel 1863 pubblica un saggio sulle malattie infettive nel tomo IV degli *Eléments de pathologie médicale di Requin*.

Nella prima comunicazione, dopo aver ripreso le osservazioni fatte con Rayer nel 1850, scrisse:

Io pensai allora [cioè nel 1850] di verificare, quando l'occasione si fosse presentata, questo fatto dell'esistenza degli infusori filiformi nei montoni scoperti nel carbonchio e di cercare se lo sviluppo di esseri microscopici assai vicini alla conferve non fossero la causa del deterioramento del sangue e, conseguentemente, della morte dell'animale.

In questa dissertazione che riporta minuziosamente le sue osservazioni conclude affermando:

È da molto tempo che alcuni medici o naturalisti hanno ammesso che le malattie contagiose, le febbri epidemiche gravi, la peste, ecc..., sono determinati da animalculi invisibili o da fermenti, ma non so di alcuna osservazione positiva che abbia confermato queste idee².

Davaine dopo queste osservazioni decise di attribuire un nome agli animalculi invisibili osservati definendoli *batteri*, termine ancora in uso oggi.

Egli constatò che il sangue carbonchioso restava virulento molto a lungo; anche, conservato a secco, per diversi mesi poteva trasmettere ancora la malattia; poi si scoprì che l'esistenza protratta aveva come causa la capacità riproduttiva delle spore.

I lavori eseguiti da Davaine non ebbero il consenso di tutta la comunità scientifica; in particolare, Laplat e Jaillard pubblicarono una Memoria che tendeva a confutare le risultanze sperimentali presentate da Davaine.

Toussaint fece tesoro degli esperimenti di Davaine e contemporaneamente avviò gli studi su microbi già segnalati da Edoardo Perroncito³.

Toussaint ebbe modo di coltivarli (è la prima coltura in vitro di un batterio, seguito poco dopo da Robert Koch) e dimostrò che era causa di una grave malattia infettiva, il

² Decourt Ph., *Les vérités indésiderables*, Vol. I, Parigi, 1989, p. 202.

³ Per la biografia del medico torinese si rimanda al capitolo IV del presente lavoro.

colera dei polli; parallelamente, sperimentò una lunga serie di procedimenti per attenuare o sopprimere (come si vedrà più avanti) la virulenza microbica.

Gli studi di Toussaint sul carbonchio furono resi noti da Bouley, che presentò quattro Note del veterinario di Tolosa, nel 1877 e nel 1878 Roux, assistente di Pasteur, non marginalmente, ha modo di anticipare le posizioni sui metodi e sugli strumenti della imminente querelle : «Pasteur era cosciente che la battaglia conclusiva era stata ingaggiata e non trascurava niente per ottenere la vittoria». [...] Non vuole lasciar niente di inspiegabile nei lavori degli altri; riprende uno ad uno i fatti che sembrano contrari alla sua dottrina e dimostra che, correttamente interpretati, la confermano e questo lavoro di controllo gli dà l'occasione di nuove scoperte».

Pasteur ebbe modo di confrontarsi tramite Bouley con Toussaint; da cui ricevette una lettera datata 10 luglio 1878 che Pasteur inserì in uno dei suoi Cahiers

... Signore, in una lettera che ho ricevuto lunedì sera, Bouley ha voluto informarmi che voi esaminereste con piacere del sangue o dei prodotti infetti di animali morti della malattia del carbonchio che sto studiando in questo momento. Mi affretto a soddisfare il vostro desiderio e vi spedisco nello stesso tempo, con questa lettera, una piccola scatola contenente i reperti nei tubi. Uno contiene sangue raccolto dal cuore di un coniglio morto questa notte, l'altro tre gangli linfatici dello stesso animale. Il coniglio era stato inoculato l'8, alle 6 di sera, con midollo che non era stato ancora colpito dalla putrefazione. Tutte le altre parti del corpo non erano più inoculabili, ormai da tempo; io le avevo lasciate appositamente alle larve di mosca per inocularlo in questo stato, o in quello di crisalide, allo scopo di ricercare il modo di conservazione e di disseminazione del vibrione. Sarei felice che le mie modeste ricerche potessero ottenere la vostra grande approvazione. Toussaint⁴

Pasteur, esaminati i reperti, avrebbe dovuto informarlo sui risultati ottenuti, ma la risposta inedita, del 18 luglio da parte di Toussaint, rivelò l'*impasse* che si era

⁴ Wrotnowska D., Le vaccin anticharbonneux: Pasteur et Toussaint, d'après des documents inédits in "Hist. Sci. Méd.", 1975-'76, p. 267.

verificata:

... mi rincresce veramente che i materiali infetti che vi ho mandato la settimana scorsa, vi siano arrivati in cattivo stato. Unisco alla presente un piccolo pacco contenente sangue esposto al sole, in mezz'ora d'esposizione soltanto. L'inoculazione di sangue essiccato e infetto produce risultati meno convincenti di quello fresco. Dopo aver iniettato sotto la pelle del coniglio dieci o dodici gocce di una soluzione di questo sangue, l'animale muore soltanto alla 30^a o 36^a ora. Si ritrovano vibrioni in grandissima quantità nell'edema che si è sviluppato attorno al punto dove è avvenuta l'iniezione; come nel sangue. Ma mi è sembrato che quelli (i vibrioni) si trovassero in numero minore rispetto all'inoculazione con deboli quantità di sangue fresco. Ho provato, l'altro ieri, subito dopo aver ricevuto la vostra lettera, il sangue che io oggi vi spedisco; il sangue è stato essiccato verso la metà dello scorso giugno, ma non ha perduto alcuna delle sue proprietà (temperatura 40,5°); l'iniezione sola della placche di Peyer e dell'intestino faceva difetto, come succede talvolta. Toussaint⁵.

Pasteur, dopo aver eseguito ulteriori tentativi sui nuovi reperti, il 23 luglio risponde correttamente (ma anche seminando qualche dubbio sui procedimenti di Toussaint):

Signore, ci è impossibile riscontrare i vostri risultati. Il sangue essiccato che voi mi avete mandato non si presenta del tutto virulento. Mi domando oggi se voi non abbiate ottenuto, a vostra insaputa, una setticemia purulenta, quella stessa di cui si è parlato nella nostra nota del 30 aprile scorso, e se il vostro microbo non sia semplicemente quello che noi descriviamo a pag. 447 e seguenti del Bollettino dell'Accademia di Medicina. So bene che molti dei vostri risultati si spiegano difficilmente per niente e in questo vostro modello interpretativo. Tuttavia pensateci. Io vi rinvio quello che mi resta del sangue essiccato

⁵ *Ibid.*, p. 268.

affinché voi lo esaminiate nuovamente. Pasteur.⁶

Il 25 luglio Toussaint risponde con una lunga lettera a Pasteur:

... permettetemi di tentare ancora una volta di ovviare alla mia cattiva sorte. Ieri, alle 4 del pomeriggio, subito dopo aver ricevuto la vostra lettera, ho inoculato un coniglio morto il 19 e rimasto fino ad oggi esposto all'aria. È fuori di dubbio che il coniglio da me inoculato era fortemente carico di vibrioni della putrefazione, ma l'esame offriva ancora altri vibrioni particolari, di quelli che voi desiderate, perché questo coniglio è morto questa mattina alle 10, con tutte le caratteristiche che ho riscontrato nelle vittime precedenti. Il sangue è saturo di vibrioni. Sono certo di non sbagliarmi perché, da molto li tengo sott'occhio. Spero che con le precauzioni che sto per prendere, vi arriveranno questa volta in buone condizioni. Vi invio le zampe e la testa del coniglio. Credo che se le inoculazioni avranno luogo sabato in giornata oppure la domenica, con sangue o sierosità raccolti sotto la pelle delle dita o nell'edema dell'orecchia inoculata, otterrete un risultato positivo. Il soggetto di questa mattina non ha certamente ricevuto in tre o quattro inoculazioni più di un quarto di goccia della sostanza. Ho di nuovo confrontato i miei risultati con quelli che mi avete segnalato e che sono inseriti nel Bollettino dell'Accademia di Medicina. È impossibile constatare la stessa malattia nella setticemia purulenta e nell'affezione che io studio. Nel momento in cui avete pubblicato i vostri esperimenti sulla setticemia, io ero indeciso tra setticemia e "malattia della vacca"; anch'io, per un po' di tempo, mi sono domandato se non fosse una forma di setticemia ed è per questo interrogativo che provai l'introduzione del preparato attraverso il tubo digerente e ottenni, senza cercarli, i risultati del contagio a distanza. Esposi allora in una breve memoria le mie esperienze e le riferii a Chauveau, senza però dirgli che pensavo alla malattia segnalata

⁶ *Ibidem.*

da Leplat e Jaillard.

Chauveau mi rispose senza esitare che anche lui pensava fosse questa malattia. Ecco perché ho creduto di doverne parlare nella mia nota all'Accademia⁷.

P.s. Spedisco questa lettera a voi, Joubert e a Chamberland onde evitare la possibilità di un ritardo nell'inoculazione.

La corrispondenza tra i due scienziati continua, Pasteur scrive a Toussaint il 29 luglio:

... sono io che ho una cattiva notizia. Venerdì sera mi sono arrivate la vostra piccola scatola e la vostra lettera. Sabato mattina, ho inoculato cinque gocce di acqua mescolata con po' di sierosità, di sangue, di tessuto dell'orecchia (quello non inoculata da voi) e della testa del coniglio contenute nel vostro invio (cioè che voi mi avete inviato). Il porcellino d'India si è ammalato ma è guarito; il tumore nella parte inoculata sparì, guarirà. Temendo le mosche e l'odore causato dalla calura, la testa e le zampe sono state gettate nell'acido fenico dopo l'inoculazione che mi sembrava dovesse essere molto efficace. Dunque, impossibile ricominciare. Ed ecco che la discussione sollevata dal manoscritto di Claude Bernard mi conduce nel Jura. Tuttavia, ritornerò presto, conservate il vostro microbo; io ve lo richiederò fra 15 giorni al massimo. Cercate di ottenere sangue essiccato virulento come quello che vi ha restituito con l'ultima lettera.

P.s. Cambio parere. Potreste ancora mandarmi, prima della mia partenza una scatola di ferro bianca contenente del sangue virulento del vostro microbo, in un tubo chiuso in una scatola di ferro bianca dentro segatura, con pezzi di ghiaccio, il tutto in una cassa da due o tre litri, quest'ultima poi andrebbe inserita in un'altra poco più grande, ugualmente riempita di segatura e di ghiaccio, ma fatelo subito⁸.

⁷ *Ibid.*, p. 269.

⁸ *Ibid.*, p. 270.

Toussaint si adopera al nuovo invio che avviene il 1 agosto 1878, unitamente ad una lettera dove si evincono l'attenzione e gli accorgimenti che mette in atto per ovviare alle alterazioni delle colture carbonchiose:

ho appena mandato in tutta fretta, in via d'Orleans, al vostro domicilio, una piccola cassa contenente:

1. sangue fresco e cuore con molti grumi di un coniglio morto questa mattina;
2. la testa e la parte posteriore dello stesso coniglio;
3. sangue essiccato proveniente dall'animale del quale vi ho inviato venerdì scorso le zampe;
4. sangue essiccato ieri e proveniente da un animale morto naturalmente nel mattino del 31 luglio, sebbene fosse in una gabbia dove non avevo messo animali inoculati da quasi 40 giorni. L'ultimo degli animali inoculati era quello di cui inviai i resti il 23. il sangue essiccato dopo il 23 è stato provato ieri, alle 6 di sera, su un giovane coniglio; questo è morto la mattina alle 9. Avevo utilizzato per l'iniezione una siringa Pravaz nuova per saggiare nelle migliori condizioni il sangue che vi spedisco. Infine, aggiungo, insieme a questa lettera, campioni di sangue essiccato al sole, del coniglio morto alle 9. Troverete ugualmente nella scatola di ferro bianco dei palloni molto piccoli a forma di lampada, nei quali ho provato a raccogliere del sangue direttamente nei vasi dopo aver formato il vuoto. Sono stato obbligato a ridurli perché non ho potuto del tutto fissarli, inoltre è entrata dell'aria in 3 palloni, perché, gli stessi contenevano dei grumi che impedivano l'entrata del sangue liquido; capita spesso, tuttavia, che, malgrado il contatto con l'aria, il sangue non vada in putrefazione. Il sangue essiccato che voi mi avete restituito non ha determinato niente, nemmeno con una siringa nuova, quando l'ho iniettato ad un

coniglio. Non so a che cosa attribuire la rapida perdita delle sue proprietà infettive. L'avevo esaminato l'antivigilia del giorno della spedizione ed aveva provocato la morte di un coniglio in 30 ore. Ho pensato allora che la siringa di cui mi ero servito (e che era servita qualche giorno prima a delle iniezioni di sangue) potesse aver conservato alcuni vibrioni malgrado il lavaggio ed ho preso una siringa nuova, ma non so come conciliare la perdita delle proprietà del sangue disseccato con la conservazione del microbo per un mese e più nella gabbia de miei conigli, a meno che non si ammetta quanto segue:

1. il sangue disseccato conserva per alcuni giorni (25 o 30) le sue proprietà infettive, dopo muore;
2. oppure il ragazzo incaricato di accudirli aveva trasportato lui stesso la materia contagiosa.

Il contagio a distanza getta, come voi vedete, un certo scompiglio nei miei esperimenti; per evitare inconvenienti, i conigli che ho inoculato ieri sono stati messi in un'altra stalla e con attrezzature adeguate. Posso affermare che il sangue essiccato da venerdì scorso è molto attivo. Indipendentemente dall'animale morto questa mattina, un altro morirà in un'ora o due. Sebbene io abbia una di quelle cavie morte a causa di questo microbo, vi pregherei M. di inoculare i conigli, tramite tagli di lametta o di bisturi, col sangue puro o diluito nel vapore.

[Io diffido un po' dell'azione dell'acqua sui microbi freschi].

Voglio pensare che questo tentativo sarà coronato da successo. Tuttavia se per qualche motivo eccezionale, questo tentativo fallisse, allora io vi spedirò un coniglio vivo e inoculato qui (arriverà certamente morto), del resto la settimana prossima andrò sicuramente a Parigi, porterò del sangue fresco che inoculerò da M. Marey, al College di

Francia⁹.

Pasteur e Toussaint, quindi, ebbero modo di confrontarsi sui risultati sperimentali ottenuti, arrivando a condividere alcuni aspetti sull'eziologia del carbonchio; tra questi, il fatto che il carbonchio non era mai spontaneo e che per il suo sviluppo occorreva l'inoculazione dei batteri o delle loro spore:

In accordo con Pasteur: in undici casi di carbonchio nelle pecore, su 12 esaminate, i batteri o le loro spore penetrano attraverso la bocca o la faringe [...]. Ho visto un solo esempio che mi fece pensare che quelle (spore) sarebbero potute penetrare da qualche altra via.¹⁰

Pasteur, trattenuto a Parigi per il Congresso sericolo, comunica, l'8 settembre 1878, al veterinario Vinsot incaricato per le autopsie, «Se voi avete bisogno, Toussaint potrà assistervi».

Il 9 novembre Toussaint, desideroso di aver il parere dello scienziato francese sui progressi della sua ricerca, gli indirizza una nuova lettera, reperibile nell'opera di Louis Nicol *L'epopea di Pasteur e la medicina veterinaria*. Il contenuto dell'opera conferma che il veterinario di Tolosa aveva intrapreso ricerche sul colera dei polli.

... quando io vi ho incontrato a Chartres, manifestaste il desiderio di ricevere nuovamente sangue saturo del microbo; invio che non era ben riuscito negli invii precedenti, fin dall'estate scorsa. Ultimamente ho ritrovato questo infusorio in condizioni abbastanza considerevoli e che potrebbero forse interessarvi, eccolo qui: verso la metà del mese di ottobre, un proprietario della periferia di Tolosa mi mandò due polli morti improvvisamente e senza aver, per così dire, presentato dei sintomi morbosi; nella stessa giornata, sette altri polli morirono nella stessa maniera. Il proprietario, che aveva 11 polli in tutto, pensava ad un avvelenamento causato dalla malevolenza dei

⁹ *Ibid.*, p. 270-271.

¹⁰ *Ibid.*, p. 272.

suoi vicini. Io feci l'autopsia di quegli animali e, nell'esame del sangue, osservai delle granulazioni sferiche o leggermente allungate, semplici, geminati o anche riuniti in catene di tre, ma aventi, a parte quest'ultima particolarità, le stesse caratteristiche (salvo può essere un volume un po' più grande) di quelle che ho descritto; inoculai immediatamente in un'orecchia di un coniglio, che morì in 7/8 ore. Il sangue del coniglio presentava microbi esattamente simili a quelli dei miei conigli dell'estate scorsa; quel sangue uccide nella stessa maniera sia i conigli sia i polli. La durata della vita di un pollo inoculato sotto l'ala va da 15 a 22 ore. Coltivati nel siero e nell'urina alcalina, i microbi si moltiplicano e uccidono come il sangue. Rileggendo i lavori di altri studiosi su questo argomento, mi sono convinto che la malattia dei polli che studio in questo momento non è altro che il carbonchio o colera dei polli [...]. La temperatura del periodo dell'anno in cui viviamo mi permetterà certamente di mandarvi, in buone condizioni, il sangue dei miei animali, se voi volete. Chamberland mi diceva che forse partirà per Tolosa e nel caso in cui dovessi ritrovare questo microbo, potrebbe essere un piacere e una bella occasione il mandarvelo¹¹.

Nel 1878, ritroviamo nel quaderno di laboratorio di Pasteur un'ultima lettera di Toussaint:

... vi ho appena inviato una piccola scatola, contenente il cuore di una piccola cavia, morta in seguito di una inoculazione del carbonchio dei volatili. Il sangue contiene un'immensa quantità di vibroni. Spero che arrivi con le caratteristiche intatte; in questa stagione si conservano per 12 giorni almeno, e del resto, io credo che il microbo si moltiplichi a temperature medie o perfino basse, con facilità. Fino ad oggi, inoculato a uccelli e conigli, li ha sempre uccisi. L'inoculazione sui grandi animali non ha dato riscontri. Tuttavia, Renault e Reynal hanno provocato la morte di cavalli e cani con un'inoculazione durante

¹¹ *Ibid.*, p. 273.

un'epidemia di questo colera che loro chiamavano colera dei volatili¹².

Il 12 luglio 1880, il veterinario di Tolosa deposita un «plico secretato» all'Accademia di medicina in cui si prevede la possibilità di realizzare l'immunità contro il carbonchio.

Toussaint, dopo le critiche mossegli per la sua decisione di presentare un «rimedio segreto», autorizza l'Accademia a rendere pubblica la memoria,

«Sull'immunità dal carbonchio, acquisita in seguito alle inoculazione preventive», raccomandando il riscaldamento del sangue carbonchioso a 55° per 10 minuti circa; il metodo occorrente per ottenere l'immunità, era così stato prodotto un vaccino, artificialmente e per la prima volta.

Nei suoi saggi del 1880 utilizza il procedimento, abbandonato poi, del filtraggio del sangue carbonchioso; in seguito, riscalderà sì il sangue alla temperatura di 55° per 10 minuti, ma in presenza di una leggera concentrazione di acido fenico (0,25%).

Successivamente, considerando l'efficacia di quest'ultimo procedimento dichiara:

... sono infine giunto, con un mezzo semplicissimo, a impedire al bacillo del carbonchio di moltiplicarsi nei giovani cani e nei montoni; in altri termini posso attualmente vaccinare nelle pecore che resistono alle inoculazioni e alle iniezioni intravascolari di considerevoli quantità di bacilli carbonchiosi sia che questi bacilli siano allo stato di spore ottenute da coltura o che siano allo stato di bastoncelli come si trovano nel sangue degli animali che stanno per morire.

E proseguirà fornendo anche dettagli sulle vaccinazioni effettuate sui cani e sulle pecore:

... Sono certo che i cani, fino a 6 mesi, contraggono molto facilmente il carbonchio con semplici iniezioni di sangue infetto tanto che muoiono presentando grandi quantità di batteri nel loro sangue e nello stesso tempo lesioni locali e gangliari

¹² *Ibid.*, p. 273-274.

estremamente gravi.

Su otto giovani cani provenienti da tre madri diverse ma molto simili, ne ho vaccinato 4 con il suo procedimento.

Ho scelto gli animali in modo che da un lotto all'altro ci fossero dei fratelli.

I 4 animali vaccinati hanno resistito a 4 inoculazioni successive, per iniezione, di sangue carbonchioso sotto la pelle.

Gli altri 4 «testimoni» non vaccinati, sono morti alla prima inoculazione in 2, 4 giorni con un grosso edema intorno al punto dell'inoculazione; il ganglio più vicino è aumentato da dieci a quindici volte il suo volume originale; era pieno di batteri carbonchiosi, il loro numero nel sangue superava quello dei globuli rossi.

Alla prima inoculazione di sangue carbonchioso, gli animali vaccinati ebbero un po' di febbre e in due notai un leggero edema nel punto dell'inoculazione. Le altre punture di inoculazione si «comportarono» come delle semplici piaghe.

[...] Negli esperimenti fatti su 11 pecore di razza Lauraguais (razza molto sensibile al carbonchio, che non resiste ad una inoculazione «qualsiasi sia la quantità inoculata»), [...]

«cinque furono inoculati di carbonchio una sola volta... e morirono in 2 o 3 giorni,

«Dei 6 animali restanti, due furono inoculati preventivamente, con una sola vaccinazione, e uno dei due morì con le caratteristiche che conosco. Feci ai 5 restanti una nuova vaccinazione e, dopo circa un mese, ho fatto a ciascuno 3 inoculazioni sottocutanee con sangue carbonchioso di cane, di coniglio, di pecora e una inoculazione di spore senza provocare alcun fenomeno né locale né generale».

In una nota aggiunge ancora:

(«Ogni volta che si inocula un animale vaccinato, ci si assicura dell'attività del carbonchio inoculando contemporaneamente uno o più conigli non vaccinati che

regolarmente muoiono»).

«L'assenza di fenomeni locali indica che il sangue stesso non può essere adatto alla riproduzione dei batteri. Ho, in effetti, introdotto nella vena facciale di 4 animali 2 o 3 gocce di sangue di coniglio, che visti i numerosi parassiti, rappresentano per ogni animale un totale di circa 200 milioni di batteri introdotti direttamente nel sangue. Questi quattro animali non hanno presentato alcun fenomeno morboso».

«Oggi i 5 animali stanno bene e non risentono per niente della vaccinazione o delle diverse inoculazioni che l'hanno seguita».

«Mi propongo di riinocularli di tanto in tanto per determinare la durata di quella innocuità.

Posso comunque già annunciare che dura da più di 2 mesi...¹³.

Il 23 luglio, Toussaint deposita un nuovo «plico secretato», «Procedimenti per la vaccinazione del montone e del cane giovane».

Il primo procedimento approntato, il filtraggio del sangue carbonchioso, viene abbandonato perché

È un mezzo pericoloso e per niente pratico, poiché spesso i filtri lasciano passare bacilli identificabili difficilmente al microscopio, a causa del filtraggio e si uccidono animali che si vogliono preservare [...].

facendo

ricorso al calore per uccidere i bacilli del carbonchio e portando il sangue sfibrato a 55 gradi per 10 minuti, il risultato è stato completo.

e conclude

Non solo gli animali vaccinati sono refrattari al carbonchio,

¹³ Decourt Ph., *ibid.*, pp. 212-213.

ma le inoculazioni più cariche di bacilli non producono alcun effetto infiammatorio (sottolineato da Toussaint)¹⁴.

Il 19 agosto, si tiene a Reims, il Congresso dell'Associazione per il progresso delle scienze.

Durante il Congresso Toussaint parla dei procedimenti vaccinali, affermando che nel liquido vaccinale, i microbi vengono uccisi.

Però il 6 settembre 1880, Bouley, Ispettore generale della Scuola veterinaria, dà comunicazione informativa che contrasta con gli esperimenti fatti da Toussaint,

I primi dati raccolti da M. Toussaint, nel suo laboratorio, mi pareva che dimostrassero che fosse riuscito a vaccinare contro il carbonchio delle pecore; richiesto al Ministro dell'Agricoltura, il consenso, accordato, di autorizzare M. Toussaint a provare il vaccino su una ventina di capi del gregge di Alfort, ho constatato che sui 20 animali sottoposti alla prova, 4 morirono nei primi giorni e l'autopsia dimostrò che erano morti a causa del carbonchio, a prova che il liquido inoculato non era privo di bacilli¹⁵.

Bouley riferirà che Pasteur, venuto a conoscenza del procedimento di Toussaint, coi suoi collaboratori, procederà ad esperimenti di verifica, presso la Scuola normale e nel Jura, ma i risultati non saranno resi noti.

Nel giugno 1881, Toussaint presenta una *Memoria sull'immunità dal carbonchio acquisita in seguito all'inoculazione preventiva* all'Accademia delle scienze, che gli vale il premio Montyron, mentre l'Accademia di medicina gli assegna il premio Barbier.

La Memoria è decisamente importante poiché esplicita l'evoluzione dei metodi seguiti per le vaccinazioni carbonchiose:

Primo metodo: sangue sfibrato e diluito, filtrato su 12 filtri;

Secondo metodo: riscaldamento a 55 gradi, sulla base dei lavori di Davaine perché «pensavo ancora alla necessità di uccidere i bacilli» (per ottenere un vaccino con i

¹⁴ *Ibid.*, 214-214.

¹⁵ *Ibid.*, p. 215.

microbi morti).

Terzo metodo: il più importante, azione di un antisettico,

... la difficoltà che provai nell'ottenere, senza giungere alla coagulazione, il liquido vaccinale per mezzo del calore, mi portò a utilizzare gli agenti antisettici. Preparai diverse soluzioni con l'acido fenico in commercio e provai il loro effetto sui conigli.

Dopo qualche esperimento mi attestai alle proporzioni di 1 grammo o 1,5 di acido fenico per 100 grammi di sangue, raccolto, per quanto possibile, da un animale in punto di morte, sfibrato, passato su un panno di tela e su un unico filtro di carta. L'acido fenico era disciolto in 5 centimetri cubici di alcool, diluito in 5 grammi d'acqua¹⁶.

Il 18 luglio 1881, Toussaint produce una Comunicazione «Su qualche punto relativo all'immunità dal carbonchio».

Pasteur è stupefatto dei risultati di Toussaint e, il 10 agosto, scrive a Bouley:

sono attonito e ammirato per la scoperta di Toussaint, nell'ammirazione che essa esista, nell'attonimento che possa esistere. Questa rovescia tutte le idee che mi ero fatto sul virus, sui vaccini, etc... . Non capisco più nulla¹⁷

Pasteur è perplesso perché ha una diversa e sua particolare concezione sull'immunità; sembra convinto che non si possa impedire l'insorgere di una malattia contagiosa se non dopo la sua manifestazione.

Pertanto, deduce che non sia possibile la prevenzione da una malattia infettiva, ovvero ottenerne il vaccino, soltanto attenuando la virulenza del microbo senza rischi per l'animale e alla condizione assoluta che il germe attenuato resti vivo: il microbo morto, secondo Pasteur, non può vaccinare.

Con la Comunicazione di Touissant, Pasteur dovette oltre a rivedere i suoi convincimenti, anche volle verificare, con la collaborazione dei più stretti collaboratori,

¹⁶ *Ibid.*, p. 216.

¹⁷ *Ibid.*, p. 218.

quanto fosse valida la scoperta del veterinario di Tolosa.

Il 12 agosto, Pasteur è nella casa di campagna di Chamberland per ripetere gli esperimenti di Touissant e, successivamente, sollecita la collaborazione di Roux;

preliminarmente, ai suoi più stretti collaboratori indica la necessità di accertare se si operava circa l'infezione su sangue vivente o morto.

Il 20 agosto, nonostante l'esperimento con Chamberland non avesse ancora avuto luogo, decide di scrivere a Bouley per presentare una Comunicazione che doveva essere presentata all'Accademia, una comunicazione critica del metodo di Toussaint; ricorda i suoi lavori sul «virus-vaccino del colera dei polli», con liquido filtrato dalla coltura dei microbi, con risultati che furono negativi,

sapete, i risultati sono stati assolutamente negativi. I polli inoculati, se pure in termini non costanti di tempo, con i virus infettivi, sono morti senza manifestare la minima immunità vaccinale¹⁸.

Bisogna anche dire che Pasteur, commise un grave errore, soprassedendo al principio già noto e conosciuto dallo stesso Jenner: una vaccinazione non dà immediata immunità, occorre attenderne la reazione dell'organismo.

Nei Cahiers troviamo le prove della tensione e della urgenza di concludere di Pasteur

ossessionato dai problemi innumerevoli che sollevò la nota di Toussaint... feci presente subito ai MM. Chamberland e Roux l'esigenza di sospendere qualsiasi villeggiatura e di riprendere gli esperimenti a Parigi e nel Jura¹⁹.

Che la prova con una coltura dopo il riscaldamento a 55 gradi, aveva fornito risultati incerti, tanto che i bacilli spesso non venivano uccisi e, dopo il riscaldamento, evidenziavano un ritardo nello sviluppo; il ritardo acclarava la infondatezza della teoria sull'attenuazione della virulenza con il trattamento termico.

¹⁸ *Ibid.*, p. 220.

¹⁹ *Ibidem*.

Lontano dalla vaccinazione con sangue morto, caricato di principi sconosciuti formativi durante la vita dei bacilli, M. Toussaint induce soltanto il carbonchio, un carbonchio più o meno attenuato²⁰.

Pasteur utilizza, il 21 agosto, il metodo di Toussaint nella vaccinazione contro il carbonchio, tramite il trattamento termico delle colture carbonchiose e dichiara conclusa la vaccinazione già il 27 agosto; Toussaint aveva precisato però che dopo la prima vaccinazione ne andava fatta una seconda a distanza di 12 giorni.

Lo scienziato francese ha fretta, insomma, di riferire i risultati all'Accademia per dimostrare che i lavori sul vaccino in quanto tale del veterinario di Tolosa erano da rivedere.

Il 21 marzo dell'anno successivo Pasteur riconosce dinnanzi all'Accademia delle Scienze l'ampia e meritata significatività dei lavori di Toussaint:

Il dato accertato di una preservazione del carbonchio per alcune inoculazioni preventive è dei più avanzati: siamo d'accordo con M. Toussaint sulla perfetta esattezza delle sue rimarchevoli osservazioni. Nell'esperimento di M. Toussaint, tuttavia il microbo carbonchioso non viene ucciso, come credeva, ma soltanto modificato nella sua vitalità²¹.

Pasteur tiene a precisare che nonostante la prassi vaccinale corretta, Toussaint interpreta in maniera erronea i dati, poiché, l'attenuazione si ha solamente con le «sostanze viventi».

Prosegue però la collaborazione tra Pasteur e Toussaint che gli spedisce il microbo del colera dei polli.

Il ceppo viene regolarmente coltivato a Parigi, come confiderà Pasteur a Roux sebbene egli sia ad Arbois per le vacanze di famiglia. A Parigi, nell'inverno non ha ancora ripreso lo studio del bacillo inviatogli da Toussaint, ma, il 4 marzo 1880, scrive sul Cahier una importante nota:

²⁰ *Ibid.*, p. 221.

²¹ *Ibid.*, p. 222.

Nota del 4 marzo 1880.

Qui a fianco è l'inizio della ripresa di uno studio sul colera dei polli. Si parte da un flacone X₁ del 22 novembre 1879 proveniente da un flacone X del 28 ottobre, che, a sua volta, proviene da un pollo morto il giorno precedente.

Da Arbois, avevo scritto a Roux di ricoltivare quattro flaconi del microbo che avevo messo da parte quando ho lasciato Parigi alla fine di luglio; conservati nella stufa, questi flaconi hanno coltivato solo il secondo giorno, senza dubbio perché erano diventati acidi. Credendo che il microbo non coltivasse più, Roux ha inoculato con la coltura più recente (del mese di luglio) due polli che non sono morti. Otto giorni dopo, Roux ha reinoculato i due polli con una coltura recente ma che aveva avuto un certo ritardo e uno dei polli è morto il 3° giorno, l'altro il 4°. Con il sangue di uno di loro è stato in seminato un flacone di brodo che è il flacone X del 28 ottobre²².

Questa annotazione è di grande aiuto perché spostando i tempi dell'esperimento permette di affermare che l'esperimento riportato nella vulgata non ha avuto luogo e che le prime colture in brodo acido sono state fatte da Roux e non da Pasteur; in quanto all'immunità prodotta da Toussaint, essa appariva in realtà molto fragile se non inesistente come dimostra la seconda inoculazione fatta con una coltura dello stesso tipo della prima, non molto virulenta che invece di vaccinare i polli li uccideva.

Pasteur, con un atteggiamento ormai noto, precipita alle conclusioni presentando, fin dal 22 gennaio 1880, alla Società centrale veterinaria la Comunicazione «Sulle malattie virulente e in particolare sul colera dei polli», ripresa poi, il 9 e 10 febbraio, rispettivamente presso l'Accademia delle scienze, e quella di medicina, che permettono di annotare quanto segue:

²² *Cahier 89*, p. 20 bis.

Grazie a certi cambiamenti nel modo di trattare le colture, si può fare in modo che il microbo infettivo sia limitato nella sua virulenza; ciò costituisce il punto centrale della mia Comunicazione. Tuttavia chiedo all'*Académie* la libertà di non andare, per il momento, più avanti nella mia confidenza sui procedimenti che permettono di determinare l'attenuazione di cui parlo, sia per conservare per qualche tempo ancora l'autonomia dei miei studi sia per meglio assicurarne il cammino futuro.²³

Pasteur ci dà un'indicazione concreta circa la scoperta dell'attenuazione delle colture: gli appunti riportati dei Cahiers stanno a testimoniare che non ha ancora raggiunto il metodo d'attenuazione definitivo; in dicembre, dopo gli esperimenti di Roux riportati nelle pp. 43-44 del suo quaderno, per un momento pensa di aver trovato il vaccino, ma a pagina 48 parla di illusione.

Lister, il celebre chirurgo inglese, quando seppe del metodo utilizzato da Toussaint, chiese a Pasteur se avesse presentato il suo metodo d'attenuazione dei microbi per *convertirli in vaccini*. Il 7 agosto 1880, Pasteur gli rispose:

sarò molto contento di poter dire tutto ciò che conosco sull'attenuazione dei virus molto infettivi; ma veramente non posso, non per il vano desiderio di nascondere un segreto e conservare un'osservazione che mi mette in primo piano rispetto agli altri, ma per prudenza scientifica e perché non sono soddisfatto delle mie conoscenze. Sono troppo incomplete; sono troppo mischiate a circostanze che non posso capire.²⁴

L'Accademia della medicina inizia a sollecitare Pasteur affinché venga reso pubblico il suo metodo d'attenuazione, così come aveva fatto Toussaint, il 5 ottobre in una seduta pubblica dell'Accademia, Pasteur afferma:

²³ Pasteur L., *O.C.*, *ibid*, vol. VI, p. 298.

²⁴ Decourt, *ibid.*, p. 231.

quando farò conoscere il mio procedimento di attenuazione e si saprà perché ho differito la pubblicazione, tutta l'Accademia non potrà che apprezzarmi. Si tratta di onore scientifico. Non mi esporrò a compromettere i miei lavori per una pubblicazione affrettata, per la vana soddisfazione di rispondere alla curiosità indiscreta, intempestiva e malsana di M. Guérin²⁵.

Ma, già il 26 ottobre Pasteur decide la pubblicazione dei lavori *Sull'attenuazione del colera dei polli*: il suo metodo consiste sostanzialmente nel coltivare il microbo di Toussaint serialmente, rispettando tra un'inseminazione e la successiva lunghi intervalli di tempo; può constatare che l'attenuazione avvenne dopo circa 8 mesi dall'inseminazione, al contempo rileva che i risultati sono inattaccabili e dai quaderni di laboratori si evince che, fino all'estate del 1880, Pasteur non ha ancora ben chiaro il metodo vaccinale.

Pasteur continua ad attaccare il metodo di Toussaint, vantando, al contempo, il metodo d'attenuazione utilizzato a Pouilly-le-Fort.

Il 21 marzo 1881, dinnanzi all'Accademia delle scienze Pasteur affronta il problema della vaccinazione anticarbonchiosa; raccontando che 6 mesi prima, all'inizio del 1880, Toussaint gli aveva mostrato la *possibilità di attenuare il microbo del colera dei polli e di preparare un virus-vaccino per questa affezione*. Pasteur riconosce come probanti i risultati ottenuti dal medico di Tolosa, «della più rigorosa esattezza», ma afferma che si è sbagliato nell'interpretazione dei risultati. Toussaint, sostanzialmente, afferma di depositare il bacillo nel sangue degli animali dove si moltiplicherà e successivamente si sarebbe costituito come materia da vaccino. Toussaint continua a sostenere la tesi secondo la quale la prevenzione della malattia non può essere acquisita senza un preventivo attacco della malattia.

Riassumendo, scrive, (Pasteur) nell'esperienza di M. Toussaint, il microbo carbonchioso non viene ucciso, come credeva, ma soltanto modificato nella sua vitalità. Se si volessero inoculare pecore con il procedimento artificiale di

²⁵ *Ibidem*.

Toussaint, ci si sarebbe esposti a grandi perdite.²⁶

Pasteur, con gli assistenti Chamberland e Roux, presenta nuova comunicazione sul vaccino contro il carbonchio; il preparato era simile a quello prodotto da Toussaint, l'attenuazione della virulenza con il riscaldamento della coltura a 42-43° per un lungo periodo, (contando in più nell'azione combinata dell'ossigeno)

L'esperimento è cominciato il 28 febbraio ... 31 giorni dopo, il 28 febbraio, una coltura ottenuta a 39° preparata con l'aiuto di un flacone mantenuto costantemente a 42-43°, uccideva ancora i giovanissimi topi, ma non le cavie, i conigli e i montoni. Il 12 marzo, cioè 43 giorni dopo, il 28 gennaio, una nuova coltura non uccideva più né topi né cavie...²⁷

La Società di agricoltura di Melun, sulla scorta del nuovo metodo d'attenuazione della malattia infettiva, chiede allo scienziato francese di farne una dimostrazione pubblica, il 13, 14 e 15 giugno, all'Accademia di Medicina. Al Bollettino della Società nazionale dell'agricoltura di Francia Pasteur comunica la sua decisione di accettare il guanto di sfida. Il 28 aprile firma il protocollo dell'esperimento le cui clausole principali erano le seguenti: su 60 pecore messe a sua disposizione, 25 andavano vaccinate, 25 non ricevevano alcun trattamento ed infine tutte le 50 dovevano essere sottoposte (dopo 12 o 15 giorni) ad un'iniezione di carbonchio virulento. Egli esprime il convincimento che tutti i 25 capi non vaccinati sarebbero morti, mentre quelli vaccinati sarebbero sopravvissuti. L'affermazione è tanto perentoria quanto, come si evince dai quaderni di laboratorio, prematura. Con il procedimento pasteuriano consistente nella covariazione dell'ossigeno con la temperatura i risultati non potevano essere così probanti, è lo stesso Adrien Loir a testimoniare:

I risultati dell'attenuazione che si volevano ottenere erano incoraggianti ma non i migliori, tanto che Pasteur mi invitò a fare molti esperimenti regolando adeguatamente le stufe di

²⁶ *Ibid.*, p. 233.

²⁷ *Ibid.*, p. 234.

Arsonval (ne avevamo tre) per mettere a punto il procedimento²⁸.

Al suo rientro da Melun, Pasteur informa gli ignari (e sorpresi) Chamberland e Roux di aver firmato il protocollo sull'esperimento. Fino a quel momento avevano condotto un solo esperimento, incerto ed incompleto, con una prova d'attenuazione della virulenza in laboratorio, e non sul campo.

Loir riguardo a questo esperimento scriverà:

nello stesso tempo che [Pasteur] cercava l'attenuazione del bacillo carbonchioso attraverso l'ossigeno dell'aria Chamberland e Roux provavano l'azione di alcuni antisettici sul microbo²⁹.

Essi con l'utilizzo del bicromato di potassio ottengono una evidente attenuazione: inoculano due pecore con una coltura attenuata dall'additivo chimico e verificano, dopo un'inoculazione virulenta, che erano vaccinati.

L'esperimento pubblico per la Società di agricoltura andava fatto a Pouilly-le-Fort, in una fattoria di proprietà di Rossignol. Pasteur ai suoi collaboratori che gli chiedono lumi sul metodo che avrebbe utilizzato risponde che avrebbe optato per il bicromato di potassio, (ovvero il metodo di Chamberland e Roux).

L'esperimento ebbe enorme risonanza nella comunità scientifica e grande successo. Ciò che va sottolineato è che ai più non fu noto il metodo effettivamente utilizzato, quello di Chamberland e Roux.

Pasteur non darà mai chiarimenti su questo argomento affermando anzi che «...io vivente, non pubblicherete mai questo metodo, prima di aver trovato l'attenuazione del bacillo con l'ossigeno. Cercatela!».

Però gli ordini dei vaccini arrivarono in gran numero; Chamberland li preparava in laboratorio talvolta con l'aiuto di Loir. Ci si chiede se aggiungesse alle colture il bicromato di potassio, così come fece per il celebre esperimento, ma a questo proposito

²⁸ *Ibid.*, pp. 234-235.

²⁹ Loir 1937-1938, *14*, pp. 91-92.

Pasteur mantiene una posizione neutra, se, riferisce Loir:

Una mattina che mi aveva accompagnato in laboratorio, racconta Loir, Pasteur si sedette un po' dietro di me sorvegliandomi. Misi in una provetta il vaccino carbonchioso, lasciando circa un centimetro di spazio libero, e in un'altra pipetta misi un centimetro cubico di una coltura di bacillus subtilis. Nello stesso tempo guardavo Pasteur senza completare l'operazione. Dopo qualche minuto di riflessione mi disse di continuare, riempiti i tubi, presi il paniere in fil di ferro che li conteneva e ritornammo, io e Pasteur al laboratorio di via d'Ulm. Pasteur non mi aveva detto una parola.³⁰

Chamberland, dopo l'esperimento raggiunge Pasteur e solo allora quest'ultimo gli chiede del motivo per il quale aveva aggiunto alla coltura carbonchiosa i bacilli subtilis; Pasteur risponde che l'accorgimento derivava dall'osservazione; che quest'ultimi, salendo alla superficie della coltura, formavano un velo capace di assorbire l'ossigeno; che lo stesso poteva agire sulla virulenza del vaccino. Era una operazione alla quale Pasteur non aveva pensato e della quale lo stesso Chamberland non gli aveva parlato.

Questa aggiunta alla coltura non era passata inosservata, infatti un laboratorio tedesco aveva ottenuto un vaccino carbonchioso, inviato dai ricercatori francesi, e avendo deciso di isolare i microbi poterono individuare l'aggiunta, ne pubblicarono gli studi, sostenendo infine che la scuola francese non era in grado di coltivare colture pure.

Intanto al mistero si aggiunge mistero.

Anche Chamberland non dà ragguagli sulla natura del vaccino; col diktat di Pasteur appare impossibile svelare il vero principio d'attenuazione del vaccino; anche in occasione del suo libro sull'attenuazione carbonchiosa dedica a questo argomento solo poche righe, dove le omissioni sono palesi.

La comunità scientifica e un pubblico curioso e interessato sono spettatori delle sorti dei cinquanta capi di bestiame oggetto dell'esperimento di Pouilly-le-Fort, metà dei quali erano state vaccinate dai collaboratori di Pasteur in due fasi. La prima iniezione protettiva fu eseguita il 5 maggio, la seconda il 17 maggio. Le restanti venticinque

³⁰ Decourt, *ibid.*, p. 236.

pecore non riceveranno iniezioni fino al 31 maggio, quando sia loro che le venticinque vaccinate furono iniettate con una coltura virulenta di bacilli di antrace. Pasteur aveva fissato per il 2 giugno la data limite per la verifica dell'esperimento. I risultati furono confortanti, tutte le pecore vaccinate erano vive e tutte, tranne una, erano apparentemente in salute; molte delle pecore non vaccinate erano già morte o moribonde.

La riuscita dell'esperimento inizialmente era sembrata meno certa, perché alcune pecore vaccinate erano febbricitanti in modo preoccupante, e lo stesso Pasteur aveva troppo osato³¹.

Il 13 giugno 1881, Pasteur si presenta all'Académie des sciences per riassumere i risultati dei suoi esperimenti, svolge una relazione sugli esperimenti eseguiti.

Quel programma, lo ammetto, aveva un'audacia di profezia che solo un successo sconcertante poteva giustificare. Alcune persone sono state abbastanza oneste da farmelo notare, non senza aggiungere qualche rimprovero per la mia imprudenza scientifica. Ma l'Académie (des sciences) deve rendersi conto che noi non abbiamo redatto un tale programma senza avere forti supporti da esperimenti precedenti, sebbene sia vero che nessuno di questi era della portata di quello che è stato presentato. Il rischio (disse) predilige le menti preparate, ed è in questo senso, penso, che bisognerebbe intendere la frase ispirata del poeta *Audentes fortuna juvat* (la fortuna aiuta gli audaci)³².

Più concretamente anche riferisce sul capo di bestiame deceduto, spiegandone le cause, come ho ricordato prima.

Pasteur era fiero di poter affermare che anche i più scettici sulla preparazione artificiale dei vaccini con il virus antracico ora erano suoi sostenitori; tenne a precisare altresì l'importanza di poter continuare a preparare la coltura vaccinale nel suo laboratorio. Nella relazione ufficiale mancherà un fattuale e puntuale

³¹ Il presente lavoro vuole anche offrire il confronto tra la versione pubblica e, quella riscontrabile nei Cahiers, versione che, come si legge, è molto più complessa e ricca di dati; col risultato che l'esperimento cruciale viene inficiato da incertezze, destando l'interesse dello studioso.

³² Pasteur, *O. C.*, *ibid.*, VI, p. 348.

resoconto sul metodo vaccinale approntato; i particolari dell'esperimento restarono per così dire nella sua mente, anche se aggiungono qualche dato non marginale sulla conservazione del vaccino.

Il 31 maggio tutti gli animali - vaccinati e non - erano stati iniettati con «un virus molto virulento... che si era rigenerato da alcune spore di un parassita di antrace conservato nel mio laboratorio dal 21 marzo 1877»³³ e lascia credere di aver preparato il vaccino con la sola esposizione all'ossigeno e lo mette in correlazione con il metodo precedentemente utilizzato in quello contro il colera dei polli:

In breve, adesso possediamo un po' di vaccini contro il virus dell'antrace, capaci di fornire protezione contro la fatale malattia senza mai essere fatali loro stessi, vaccini viventi, coltivabili a piacimento, trasportabili ovunque senza causarne l'alterazione e, per ultimo, preparati da un metodo che si può generalizzare, visto che servì la volta precedente per la scoperta del vaccino per il colera dei polli. Per virtù delle condizioni che ho enumerato qui, e guardando alle cose solamente dal punto di vista scientifico, la scoperta di questi vaccini contro l'antrace costituisce un considerevole progresso rispetto al vaccino di Jenner contro il vaiolo, il quale non è mai stato ottenuto in modo sperimentale³⁴.

Lo scienziato francese insiste sulle novità contenute nel suo metodo, anche in relazione ai precedenti risultati e sulle difficoltà affrontate e risolte, come quella del mantenimento costante della temperatura.

E ancora, il 22 giugno 1881, in una lezione a Versailles prima del Congresso Internazionale dei Direttori delle Stazioni Agronomiche, aggancia l'esperimento, di Pouilly-le-Fort come esemplare, ai suoi lavori di ricerca in cui il ruolo dell'ossigeno come agente attenuante era basilare per i vaccini.

La vulgata storiografica accredita perciò, il ruolo *esclusivo* assegnato all'ossigeno

³³ *Ibid.*, pp. 348-349.

³⁴ *Ibid.*, pp. 350-351.

come elemento di attenuazione, solo nel 1937, il nipote, Loir, nonché assistente dello stesso Pasteur, anche se non in modo esplicito, ci dice che il vaccino utilizzato nell'esperimento di Pouilly-le-Fort era stato preparato non dall'azione dell'aria ma piuttosto dall'azione "antisettica" del potassio bicromato:

... Chamberland e Roux avevano ottenuto una chiara attenuazione con il potassio bicromato... Pasteur, sosteneva l'attenuazione del virus attraverso l'ossigeno atmosferico. Era una teoria che lui aveva concepito. L'ossigeno distruggeva la virulenza di tutti i microbi. L'immenso ruolo dell'ossigeno era un'idea che aveva sostenuto a lungo³⁵.

Nel dixième cahier, du 20 novembre 1880 au 10 avril 1882, alla pagina intitolata "Charbon. Vaccinazione a Melun" e datata 26 aprile (1881), Pasteur aggiunse una nota a piè pagina indicando l'accordo raggiunto con la Società Agricola di Melun il 28 aprile, che prevedeva l'esperimento a Pouilly-le-Fort.

Il 5 maggio, scrive nella nota a piè pagina che le venticinque pecore da vaccinare verranno iniettate con una coltura di antrace già così "indebolita dal potassio bicromato" da non essere più dannosa per i topi, ma viene ulteriormente indebolita con tre successivi passaggi attraverso i topi (nota 22); a pagina 113 dello stesso quaderno c'è la conferma di questo procedimento.

Il batterio (bactéridie) impiegato come primo vaccino [...] è stato un batterio attenuato con bicromato di potassio e che, non uccidendo più del tutto, era stato rinforzato con tre passaggi successivi in tre cavie³⁶

In più ci informa che la seconda coltura iniettata nelle pecore vaccinate (il 17 maggio) è stata anch'essa attenuata dal potassio bicromato, ma questa volta l'esposizione all'antisettico è stata limitata a pochi giorni e l'attenuazione che ne è risultata non è stata rinforzata dal passaggio nei topi. La seconda coltura uccide due

³⁵ Loir 1937-1938, *14*, pp. 91-92.

³⁶ L. Pasteur, *Cahier 91*, p. 115.

delle quattro pecore non vaccinate. Il 28 e nuovamente il 29 maggio, i collaboratori iniettano una coltura virulenta di antrace in una pecora vaccinata e in una non vaccinata. Nella mattina del 31 maggio, le due pecore non vaccinate, già inoculate, muoiono, mentre le due vaccinate hanno solo una leggera febbre. Il resto delle pecore - vaccinate e non vaccinate verrà poi inoculate come da protocollo il 31 maggio con una coltura fortemente virulenta, vecchia di quattro anni!

Dopo un mese dal successo di Pouilly-le-Fort, Pasteur riprende il metodo d'attenuazione con l'esposizione dei bacilli dell'antrace all'ossigeno, tanto che testa i nuovi vaccini su 75 pecore; i risultati pur positivi, fanno però comprendere che questo metodo non dava risultati duraturi.

La produzione e la vendita dei vaccini è delegata a Chamberland che riscuote la fiducia di Pasteur sul metodo da utilizzare.

Pasteur riprende i suoi lavori col metodo d'attenuazione con l'ossigeno, confidando in un metodo semplice e scevro da complicazioni, estensibile ad altre malattie microbiche.

Per ciò che riguarda il rapporto - confronto tra Pasteur e Toussaint occorre dire che Pasteur si vide costretto ad accelerare i tempi nell'approntare l'esperimento nella competizione con Toussaint, che nel luglio 1880, aveva annunciato la scoperta di un vaccino efficace contro il carbonchio, in anticipo sui tempi previsti dallo stesso Toussaint, che, nei primi due giorni del luglio 1880, ricevette una visita alla Scuola veterinaria di Tolosa di Henri Bouley (1814-1899), Ispettore generale delle scuole veterinarie di Francia; Toussaint raccontò a Bouley di alcuni risultati promettenti circa le ricerche per un vaccino contro il bacillo antracico; Bouley incoraggiò Toussaint a rendere pubblico il suo lavoro e diede il suo sostegno per il riconoscimento della sua scoperta.

Quando Bouley tornò da Tolosa a Parigi, dove era membro dell'Académie des sciences e dell'Académie de médecine, portò con sé una Nota nella quale Toussaint descriveva brevemente i risultati derivati dai suoi esperimenti e una busta chiusa contenente una seconda Nota sul metodo usato per produrlo. Aveva chiesto a Bouley di aspettare fino al 12 luglio per leggere la prima nota all'Académie des sciences e di depositare la busta chiusa al segretariato dell'Istituto di Francia. In Francia, il deposito di note sigillate era ancora un meccanismo stabilito per assicurare, e proteggere, le

priorità di una persona per una scoperta scientifica.

Bouley non fu capace di rispettare la scadenza di Toussaint. Una settimana prima della scadenza, il 6 luglio 1880, accennò al nuovo vaccino in una riunione dell'Académie de médecine, nel contesto della discussione su una comunicazione «la pustola maligna», nome comunemente attribuito al carbonchio negli esseri umani. L'autore di quella comunicazione, il veterinario Gabriel Colin, aspro oppositore sia di Bouley sia di Pasteur e delle dottrine microbiologiche in generale, protestò per l'accenno prematuro del vaccino, non più segreto, di Toussaint, e dichiarò la sua priorità circa l'inoculazione preventiva contro il carbonchio.

La polemica di Colin, alla fine, portò a una risposta scritta di Toussaint, che non appartenendo all'Académie de médecine, non poté rispondere direttamente. Il 12 luglio, come concordato con Toussaint, Bouley passò al segretariato dell'Istituto di Francia la nota sigillata nella quale Toussaint indicava il metodo vaccinale; lo stesso giorno, Bouley lesse dinnanzi all'Académie des sciences la Nota di Toussaint sui risultati iniziali delle sue prove sperimentali e dai *Comptes rendus* dell'Académie, sono noti i dati sperimentali del vaccino su otto cani e undici pecore; quattro furono iniettati con il suo vaccino e poi sopravvissero a una serie di quattro successive iniezioni di sangue virulento di carbonchio; i quattro cani non vaccinati morirono alla prima iniezione; delle undici pecore, sei furono vaccinate e cinque servirono di controllo, cioè non furono vaccinate, ma quando furono iniettate con il carbonchio virulento, le cinque pecore non vaccinate morirono. Anche una delle sei pecore vaccinate morì, dopo le fu iniettato il sangue con il carbonchio virulento, ma le altre cinque sopravvissero anche a tre successive iniezioni di sangue o spore di carbonchio virulento, rivelando l'immunità acquisita. Il metodo, attraverso il quale Toussaint aveva prodotto il suo vaccino, rimase però sigillato nella busta affidata al segretariato dell'Istituto di Francia.

Due settimane più tardi, il 27 luglio 1880, i nomi di Pasteur e Toussaint furono accumulati nel corso di una tormentata sessione dell'Académie de médecine. In una lettera, presentata all'Académie da Bouley, Toussaint replicava alle critiche mossegli da Colin, affermando che Colin avrebbe dovuto pubblicare per tempo un resoconto dei suoi risultati circa l'immunità contro il carbonchio. Toussaint nella sua difesa inoltre, chiese all'Académie de médecine di pubblicare nel *Bulletin* la sua nota del 12 luglio, come era già avvenuto nei *Comptes rendus* dell'Académie des sciences; la richiesta produsse una

considerevole opposizione, fondata sul pretesto che non si dovessero pubblicare registrazioni di «rimedi segreti».

Bouley richiamò un precedente, quando sul Bulletin era apparso l'annuncio di Pasteur sul vaccino contro il colera dei polli, ma il suo metodo restava ancora sconosciuto. Alla fine l'Académie de médecine rese ufficiale e pubblica la nota di Toussaint, ma non le critiche a Colin. A causa di questa ultima condizione, il resoconto pubblicato della riunione del 27 luglio 1880 trattò, senza distinzione, Pasteur e Toussaint come scopritori di "rimedi segreti".

Pasteur e Toussaint si preoccuparono che la loro integrità professionale fosse stata messa in discussione: Pasteur, membro dell'Académie dal 1873 minacciò le dimissioni, ma decise altrimenti quando gli fu permesso di pubblicare una nota a giustificazione del suo comportamento; Toussaint, che non ne faceva parte rispose dando immediata disposizione per l'apertura della busta sigillata e di rivelarne il contenuto, all'Académie des sciences e all'Académie de médecine.

Nella nota sigillata, ormai pubblica, Toussaint aveva descritto brevemente il metodo utilizzato per il suo vaccino contro il carbonchio: defibrinatura e filtrazione del sangue degli animali morti di carbonchio, (le iniezioni del liquido ottenuto qualche volta uccidevano gli animali ma Toussaint suppose che questi "incidenti" dipendevano da difetti di filtrazione) e riscaldamento del sangue carbonchioso a 55° per 10 minuti.

Pasteur, da Arbois, prese posizione sul lavoro di Toussaint, come già riferito. È fuori luogo che Pasteur aveva una teoria di base sulla immunità molto diversa da quella di Toussaint (e non sarebbe servita la difesa e l'appoggio di Chauveau al suo allievo il 26 luglio 1882); Chauveau fu fortemente convinto del metodo vaccinale approntato dal suo allievo Toussaint, a riprova citiamo la Comunicazione che fece il 26 giugno 1882 dinnanzi all'Accademia delle scienze di Parigi, «Studio sperimentale delle condizioni che permettono di rendere usuale l'impiego del metodo del signor Toussaint per attenuare il virus carbonchioso e vaccinare le specie degli animali soggetti al sangue di milza».

Alla prova dei fatti anche Chauveau dovrà concludere

... [Toussaint] Io mi guarderò bene dal paragonarlo sotto il punto di vista dell'importanza scientifica alla meravigliosa creazione di razze di virus vaccino che dobbiamo a Pasteur, ma io penso che sul terreno dell'utilizzazione pratica i due metodi di vaccinazione possono dividersi il favore del pubblico e l'onore dei servizi di arrecare all'agricoltura.³⁷

Intanto per alcuni giorni all'inizio dell'agosto 1880, Toussaint poté godere dell'approvazione dell'Académie des sciences e dell'Académie de médecine; ben presto però, le sue stesse prove sperimentali sollevarono la sua corretta preoccupazione di scienziato; con la modifica del suo metodo vaccinicò dopo l'invio della famosa nota sigillata a Parigi, aveva verificato che il sangue carbonchioso riscaldato a 55° non dava risultati soddisfacenti e duraturi e perciò pensò di sottoporre il sangue antracico all'azione disinfettante dell'acido fenico.

Toussaint e Bouley avviarono una prova del vaccino "antisettico" contro l'antrace, iniettando venti pecore in salute, presso la Scuola veterinaria di Alfort (8 agosto '80); il 12 agosto, quattro delle venti pecore morirono di carbonchio, sedici erano seriamente malate; Toussaint e Bouley temettero il fallimento, ma le pecore sopravvissute guarirono e fu possibile constatare l'acquisizione immunizzante. Una settimana più tardi, il 19 agosto, Bouley nel laboratorio di Pasteur, in rue d'Ulm a Parigi, parlò con Emilie Roux, Pasteur e Chamberland stavano conducendo esperimenti sul campo vicino a Arbois, e gli confidò il parziale insuccesso di Toussaint e sollecitò la sua opinione.

Roux che sapeva dei limiti del riscaldamento nel metodo di Toussaint informò Pasteur ma anche Bouley informò Roux del nuovo vaccino "antisettico" di Toussaint e Roux con Pasteur e Bouley si resero conto che le ricerche erano avviate (con le inevitabili questioni legate alle rivendicazioni della importante priorità e di tutto quanto ne sarebbe scaturito ad ogni livello, personale, scientifico ed economico...) verso un vaccino "vivo" piuttosto che "morto", "biologico" piuttosto che "chimico".

Già in gara per produrre un vaccino sicuro e efficace contro il carbonchio, Pasteur e

³⁷ Chauveau, *Studio sperimentale delle condizioni che permettono di rendere usuale l'impiego del metodo del signor Toussaint per attenuare il virus carbonchioso e vaccinare le specie degli animali soggetti al sangue di milza*, in *Giornale di Medicina veterinaria e di Zootecnia*, G.B. Mazzini, Torino, p. 674, 1882.

Toussaint adesso si trovavano a disputarsi il riconoscimento sulla interpretazione “biologica”. Toussaint dichiarò di aver abbandonato l’interpretazione chimica in un documento consegnato al Congresso di Reims il 19 agosto 1880; Toussaint provò di aver cambiato idea indipendentemente dalle certezze di Roux, (e di Pasteur).

Non sussiste nessun dubbio che nella versione pubblicata delle relazioni di quel Congresso, Toussaint affermò in modo definitivo che i suoi vaccini producevano i loro effetti non per la virtù di una sostanza solubile, visione chimica, ma piuttosto per la virtù di “uno stato indebolito del parassita”. In altre parole, la posizione di Toussaint del 19 agosto 1880 ricalcava la stessa interpretazione biologica che Pasteur e Roux prediligevano a priori. Ma intercorsero alcuni mesi tra il discorso di Toussaint e la sua stampa - le regole dell’Associazione francese permettevano ai relatori di rivedere le loro comunicazioni orali prima della pubblicazione nell’annuale *Compte rendu* dell’Associazione e il testo stampato di Toussaint riferì degli esperimenti intrapresi *dopo* l’incontro di Reims del 19 agosto; era naturale che avesse aggiornato, rivisitandola, la sua posizione prima di pubblicarla. Pasteur poteva però plausibilmente sospettare che Toussaint avesse abbandonato la sua interpretazione chimica solo dopo l’incontro di Reims - e quindi anche dopo aver preso atto delle conclusioni di Roux, tramite Bouley.

Pasteur invece, decise di rivelare il metodo vaccinale per il colera dei polli alla fine dell’ottobre 1880, nove mesi dopo la scoperta. Il primo passo nella preparazione del vaccino, Pasteur svelò soltanto che nel suo metodo d’attenuazione “il tempo era un elemento nelle mie ricerche”, ma restava ignoto, ufficialmente e ancora non concluso il programma di ricerca che aveva prodotto il suo vaccino con l’ossigeno attenuante. Pasteur aveva insufficienti basi sperimentali per annunciare la “scoperta” di un vaccino contro il carbonchio nel gennaio 1880; soltanto nell’ottobre 1880, Pasteur finalmente rivelò il suo metodo nel produrre il vaccino contro il colera dei polli, quando già Toussaint aveva annunciato la scoperta del suo vaccino contro l’antrace e in agosto per di più aveva pubblicato la nota sigillata sul metodo approntato; Pasteur annunciò la sua scoperta del vaccino contro l’antrace nel febbraio 1881, sei mesi dopo Toussaint, dunque, ma con differenze sostanziali circa la “qualità” del vaccino.

Il bacillo dell’antrace formava spore che resistevano all’azione attenuante dell’ossigeno atmosferico; molto tempo e molto impegno erano serviti per scoprire che

una coltura, libera di spore poteva essere prodotta alla temperatura di 42°-43° e che sarebbe stata soggetta solo in quel caso all'attenuazione.

Pasteur certamente enfatizzò la superiorità delle sue conclusioni rispetto a quelle "incerte" determinate dal riscaldamento del sangue, da parte di Toussaint.

Un mese dopo, il 21 marzo 1881, Pasteur rafforzò la sua critica più estesa sul lavoro di Toussaint, riferendosi al suo slittamento sospetto da un'interpretazione chimica ad una biologica, da un vaccino "morto" ad uno "attenuato", insistette sulle mancanze pratiche della "procedura artificiale" nel suo metodo sulle "grandi perdite di animali", se applicato su larga scala; ribadì che le proprie colture trasmettevano le proprietà vaccinali anche alle successive.

Pasteur ebbe il torto, forse, di soffermarsi solo sui lavori iniziali di Toussaint non facendo riferimento ad un qualsivoglia utilizzo dell'acido fenico; non riferì in alcun scritto sul lavoro precedente dell'amico Casimir-Joseph Davaine (1812-1882), scopritore del microbo dell'antrace - Davaine già dal 1873 andava affermando che antisettici in serie potevano rendere inoffensivo il sangue virulento con l'antrace ed essere perfino usati per trattare l'antrace attivo; se nel 1877 Pasteur e collaboratori avevano tentato la strada degli antisettici incluso l'acido fenico, concludendo che la prolungata esposizione a questo antisettico distruggeva i bacilli, fu quasi sicuramente e nuovamente di Toussaint la paternità nell'attestare la rilevante importanza dell'acido fenico per un vaccino contro l'antrace, che accelerò l'interesse dei pasteuriani sugli effetti degli antisettici e di altri agenti chimici sui bacilli.

Il 21 agosto 1880, solo due giorni dopo aver informato Roux della prova di Alfort con l'acido fenico, Bouley ritornò nel laboratorio di Pasteur in rue d'Ulm; Toussaint andò con lui; esposero a Roux l'intenzione di iniettare antrace virulento nelle pecore sopravvissute all'esperimento di Alfort per verificarne l'immunità e gli richiesero una coltura preparata secondo gli standard usuali del laboratorio di Pasteur. La coltura richiesta fu consegnata ma, con una lettera del 27 agosto, Bouley informò che la morte, causata da quella coltura, di un coniglio usato come controllo aveva reso inutile il loro tentativo e che avrebbero avuto bisogno di ritentare con il sangue virulento di antrace piuttosto che con la coltura inattiva data da Roux.

Roux in una lettera del 30 agosto 1880, obiettò, ricordando di aver mostrato due colture diverse a Toussaint e Bouley il 21 agosto: la prima consisteva in ordinario

sangue fresco con antrace, la seconda, preparata a luglio da Chamberland, era sembrata all'esame del microscopio, pura, contenente una grande quantità di spore di antrace; era, per Roux, legittimo il sospetto che Toussaint e Bouley avessero optato per la coltura di Chamberland, lasciando così il sangue fresco di antrace. Anche la seconda coltura nel coniglio di controllo, comunque, mostrò che essa aveva per qualche ragione perso la virulenza. Roux, che aveva già tentato un confronto, in una lettera del 19 agosto, tra i vaccini di Toussaint e la coltura "indebolita" coi vapori di petrolio di Chamberland, ipotizzò, nella sua del 30 agosto, che quelle colture di Chamberland potessero produrre immunità. Pasteur sottolineò l'osservazione di Roux quando scriveva: «non ho idea del perché questa coltura di antrace si sia dimostrata esser inattiva. Può essere che le colture di antrace che abbiamo in laboratorio in molte bottigliette dimostrerebbero di essere benigne per le pecore e darebbero allora l'immunità - le colture di spore che Chamberland ha lasciato esposte per qualche tempo al vapore del petrolio? Forse era una coltura di questo genere che senza accorgermi ho dato a Toussaint?». ³⁸

Roux, insomma, non escludeva che agenti chimici, oltre all'ossigeno atmosferico, inclusi per ultimi i vapori del petrolio, potessero attenuare la virulenza dei bacilli; mentre Pasteur procedeva ancora nella ricerca con la sola esposizione della colture all'ossigeno. Solo dopo il 21 marzo, Pasteur progettò, sulla scorta di test preliminari, una prova sul campo di larga scala nel distretto di Beauce, ma i piani saltarono quando Hippolyte Rossignol, il veterinario di Pouilly-le-Fort mise a disposizione la sua fattoria per saggiare il vaccino pasteuriano e Rossignol lo sfidò a intraprendere una prova pubblica del vaccino. Pasteur accettò la sfida, sebbene le note di laboratorio di quel periodo non lo consentissero ancora. Da metà gennaio, Pasteur andava registrando certezze sulle colture dell'antrace attenuate dall'esposizione all'aria a 42°-43°; in una nota inserita il 1 febbraio, Pasteur descrisse una di queste colture affievolite come "molto probabilmente un vaccino" contro l'antrace e ancora si ripeté in una nota agli inizi di marzo.

Ad aprile, il registro dimostrò che gli esiti dei test restavano non conclusivi e, anzi, includevano un esiguo numero di esperimenti sulle pecore; e Pasteur continuò a testare varie specie dei suoi vaccini attenuati dall'ossigeno.

Il 13 aprile 1881, solo due settimane prima della firma del protocollo di Pouilly-le-

³⁸ Lettera di Roux a Pasteur, Laroche-foucauld, 30 agosto 1880.

Fort, Pasteur registrava i risultati di un test comparativo, effettuato su piccola scala, di una delle sue colture attenuate dall'ossigeno e di uno dei vaccini al potassio bicromato di Chamberland: delle due pecore inoculate col "vaccino" di Pasteur, una morì durante l'iniezione dell'antrace virulento, mentre, il vaccino al potassio bicromato di Chamberland preservò entrambe le pecore iniettate. Il vaccino di Chamberland era più sicuro e Pasteur così scrisse nel registro alla fine di quella prova.

Come sappiamo, firmò il dettagliato protocollo il 28 aprile 1881, nonostante le incertezze varie e Chamberland e Roux, inizialmente contrari alla prova, si tranquillizzarono quando il maestro decise di utilizzare il loro risultato vaccinale, col bicromato di potassio.

Pasteur pubblicamente non lasciò trasparire i suoi dubbi, la paura di fallire e soprattutto non svelò il vero metodo approntato, quello che in fondo aveva già utilizzato il suo più diretto competitore, Joseph Henri Toussaint.

Sono, quindi, possibili alcune considerazioni sulla controversia. I lavori di ricerca di Pasteur sul carbonchio furono senz'altro influenzati e anche intensificati dalla competizione serrata con Toussaint: erano in gioco la priorità della scoperta, la fama non solo nazionale, lo sfruttamento economico.

La sorpresa di Pasteur nell'apprendere che Toussaint aveva prodotto il primo vaccino ritenuto efficace contro l'antrace, è da leggere anche come rammarico e forse come amara disillusione dei suoi principi teorici; così si può interpretare la lettera che scrisse il 10 agosto dell'80, a Henri Bouley; le implicazioni teoriche del vaccino di Toussaint³⁹, sui vaccini "vivi" in contrapposizione ai "morti"; lo rendevano agitato e inquieto sul suo futuro di - ruolo di scienziato.

È opportuno ricordare che il primo vaccino ottenuto artificialmente da Pasteur, quello sul colera dei polli, derivava da un metodo che non era stato comunicato alla comunità scientifica, con una strategia poco produttiva, per la verità.

Toussaint poteva a buon diritto considerarsi il primo ad aver presentato pubblicamente il metodo d'attenuazione. Le circostanze dettero a Pasteur una nuova

³⁹ Toussaint suppose che lo sviluppo attenuato dei bacilli dell'antrace rilasciasse una sostanza solubile, nella circolazione sanguigna, tossica per il microbo stesso; ritenendo che tale sostanza solubile, una volta prodotta e fermata, potesse agire come un vaccino proprio sui bacilli di antrace viventi.

chance poiché il metodo di Toussaint, non ebbe il consenso totale della comunità scientifica; tuttavia i collaboratori di Pasteur furono fortemente influenzati dai lavori di Toussaint; per esempio, come Chamberland, che comprese il ruolo e l'importanza dell'utilizzo di additivi chimici o lo stesso Pasteur che, a Pouilly-le-Fort, optò per il bicromato di potassio utilizzato da Chamberland.

A Pasteur, omettendo, riuscì una duplice impresa: presentò i lavori come una prosecuzione di quelli già intrapresi e ne deviò l'accostamento a quelli di Toussaint; entrambi infatti avevano utilizzato agenti antisettici, il primo acido fenico, il secondo bicromato di potassio.

Toussaint, dopo l'esperimento pasteuriano pubblico e vincente, uscì di scena; presentò i suoi lavori in una busta sigillata ai membri dell'Académie de médecine, non si oppose a che i risultati fossero resi pubblici, e non chiese mai una licenza per la produzione dei vaccini antracici.

Pasteur invece si arrogò il diritto di commercializzare i vaccini in via esclusiva, paventando che « ... una cattiva applicazione del metodo compromettesse il futuro di una pratica che era chiamata a rendere grandi servizi all'agricoltura»⁴⁰ e si propose come direttore di una fabbrica di stato per la manifattura dei vaccini stessi.

È dimostrato che per un semestre del 1880 Pasteur e il suo laboratorio godettero di un rilevante margine di guadagno (130.000 franchi) dalla vendita dei vaccini contro l'antrace.

Forse a Toussaint non interessa l'aspetto pubblico ed economico della sua scoperta; va ricordato che, a differenza di Pasteur, non era membro di alcuna comunità scientifica e non aveva le coperture politiche del suo antagonista; forse il veterinario di Tolosa aveva un'idea più "missionaria" della scoperta scientifica, che riteneva non così connessa allo sfruttamento industriale e alla fama lucrosa che ne sarebbe derivata; forse, più semplicemente, Toussaint non possedeva né mezzi né mentalità al di là del suo "sperimentare"...; i suoi metodi e le sue procedure, erano, in effetti, relativamente grossolani ed inadeguati per uno sviluppo a livello nazionale, ed oltre, a differenza di quelli pasteuriani che, grazie all'avanzate tecniche utilizzate, portarono a colture più facilmente stabilizzabili ed essere così riprodotte a livello industriale.

Pasteur nel caso specifico di Pouilly-le-Fort decise sostanzialmente di sottacere la

⁴⁰ Pasteur, *O. C.*, *ibid.*, p. 350.

vera natura del vaccino approntato ben conscio che i suoi maggiori detrattori, tra i quali ricordiamo Robert Koch, potessero riconoscere a Toussaint il primato sulla scoperta della vaccinazione antracica.

Senza dimenticare che le riserve di Pasteur, potevano derivare anche dall'antagonismo scientifico (e nazionalistico) nei confronti di Koch.

IV. Controversie vere (e immaginarie) sulle teorie pasteuriane in Italia

La Scuola Veterinaria piemontese ebbe riconoscimento con R.D. del 1769 dal re Carlo Emanuele III e fondata su iniziativa di Giovanni Brugnone (1741-1818). Inattiva dal 1814 al 1818, con la Restaurazione la scuola riprese la sua attività con Carlo Lessona.

È superfluo elencare qui i molti uomini di cultura veterinaria, che si alternarono alla Scuola veterinaria piemontese dirigendola e fornendo contributi di primaria importanza per il patrimonio zootecnico non solo sabauda ma anche del neonato stato italiano; alcuni nomi spiccano, però; il già citato Carlo Lessona (1784-1858) cui va il merito della fondazione del primo giornale di veterinaria (1838); Domenico Vallada (1822-1888) e Roberto Bassi (1830-1914) coi loro molti lavori su un ampio arco di competenze medico-veterinarie e di diffusione della cultura di base zootecnica e dell'allevamento; Edoardo Perroncito (1847-1936) che ottenne la prima cattedra universitaria di Parassitologia. La S.V.P. dette particolare incremento allo studio della malattie infettive, dando rilievo all'eziologia e alla profilassi della malattia carbonchiosa che rientravano negli obblighi previsti ma che prevedeva quella informazione - formazione utile allo sviluppo della zootecnia piemontese ovvero alla nobiltà terriera e alla mezzadria. Agricoltura e allevamento erano i pilastri dell'economia e, nel processo di rinnovamento strutturale e tecnologico di fine secolo, era inevitabile che sperimentazioni e innovazioni fossero guardate con molta attenzione dagli scienziati e dai proprietari; occorre però considerare come, proprio agricoltura e allevamento fossero tradizionalmente guardinghi nei confronti delle novità; la normalizzazione degli scambi culturali con la Francia tuttavia favorì l'introduzione di nuove tecniche di profilassi per la tutela del patrimonio zootecnico. L'incontro con le scoperte d'Oltralpe sui metodi di vaccinazione e con le difficoltà obiettive inerenti, costituiscono perciò la prova del movimento tecnologico e teorico tra accuse, diffidenze e incomprensioni che qui cercherò di riferire, che la microbiologia era in grado di suscitare non solo a partire dal celebrato esperimento di Pouilly-le-Fort - le cronologie inerenti interessano altre tecniche e altri scienziati a vario titolo importanti - e della scuola pasteuriana.

Gli esperti della S.V.P. diretti dal prof. Domenico Vallada, e con la cooperazione tecnico-pratica dei proff. Bassi, Brusasco¹, Longo, De Silvestri richiesero una serie di vaccinazioni sul modello pasteuriano. Con la necessaria autorizzazione governativa e coi fondi ufficialmente stanziati, si ottenne l'invio del virus attenuato di 1° e 2° grado da parte di Boutroux, detentore della licenza per la produzione del vaccino, in Francia. La prima vaccinazione fu eseguita il 9 febbraio 1882, la seconda il 22 febbraio; gli animali predisposti furono vaccinati regolarmente, seguendo rigorosamente le istruzioni di Pasteur: nella prima serie di esperimenti i soggetti furono così ripartiti (sette ovini, un capro, tre bovini e tre cavalli); alla prima vaccinazione dei quattordici animali si aggiunse l'operazione su sei conigli, e si iniettò a ciascuno di essi, sotto la pelle della coscia, uno su sedici di centimetro cubo di vaccino di 1°. Due dei sei conigli morirono dopo quattro giorni a causa delle alterazioni patologiche del carbonchio; col loro sangue si inocularono altri conigli che morirono di carbonchio nelle ventiquattro ore successive. Trascorso un mese dalla seconda vaccinazione, il 23 marzo, fu eseguito l'esperimento di controllo con sangue carbonchioso su nove animali vaccinati ed altrettanti non vaccinati; fra gli animali vaccinati: quattro ovini morirono su quattro, ed il capro, due cavalli si salvarono; e i due bovini; sugli animali non vaccinati morirono sette animali su nove. Dunque, i risultati delle vaccinazioni "torinesi" furono negativi, erano anzi in stridente contrasto con quelli "francesi".

Brusasco ci racconta l'esito dei primi esperimenti:

Ma il risultato fu, con nostra sorpresa, alquanto diverso da quello che noi ci aspettavamo: di undici animali vaccinati, coll'inoculazione di sangue carbonchioso puro ne morirono sette, al controllo. I due bovini però non morirono, quantunque abbiano non poco sofferto; è negli ovini che abbiamo avuto un

¹ Lorenzo Brusasco in "Carbonchio. Più convenienti provvedimenti profilattici e di polizia sanitaria per arrestarne lo sviluppo negli animali e la trasmissione all'uomo (cremazione e vaccinazione)", Torino, 1882, dopo aver fatto una disamina analitica sui vari metodi di attenuazione del carbonchio, allora conosciuti, rivendica la prima applicazione del metodo pasteuriano in Italia, effettuata il 9 settembre '81 al Congresso di Medicina veterinaria tenutosi in Milano. Egli chiese al prof. Vallada, Direttore della Scuola veterinaria di Torino, di adoperarsi ufficialmente presso il Governo italiano per ottenere il sussidio necessario per gli esperimenti.

risultato negativo.²

Dunque, con grande sorpresa dei veterinari torinesi il metodo pasteuriano forniva risultati scoraggianti, ma Brusasco si limitò timidamente ad affermare, che i loro dati non collimavano con quelli di Pasteur

Laonde pei risultati avuti in questa prima serie di esperimenti, non trovandoci in grado di poter dare un nostro giudizio definitivo sul valore pratico di queste vaccinazioni preventive col metodo Pasteur, non volendo certamente mettere in dubbio gli splendidi risultati avutisi dal Pasteur stesso, per la immensa stima verso sì illustre scienziato, abbiamo creduto conveniente, anzi indispensabile, di fare una seconda serie di esperienze, ed in questo stesso giorno procederemo appunto in vostra presenza all'inoculazione di controllo sopra diciotto animali che sono stati già vaccinati due volte col vaccino di 1° e 2° grado inviatoci dall'incaricato del Pasteur, il Boutroux, e sopra 12 non vaccinati. Quale ne sarà il risultato? Io non lo devo predire, lo vedrete fra poco tempo. Ma faccio voti, ora che la prima parola è detta, che fu trovato il metodo, che si riesca nell'intento!³

Brusasco aggiunse che l'analogo vaccino, utilizzato dalle Scuole veterinarie di Bologna, Pisa e Milano non consentì di concludere positivamente gli esperimenti, ma riconfermò la necessità di rafforzare le misure igieniche e profilattiche e, più in generale, insistette su un'adeguata politica sanitaria contro le malattie infettive⁴.

Brusasco tuttavia continuò gli esperimenti insieme ai suoi colleghi della Scuola

² *Ibid.*, pp. 42-43.

³ *Ibid.*, p. 43.

⁴ Brusasco durante il Congresso di Medicina veterinaria tenutosi in Milano nel settembre 1881, lesse un Rapporto sul carbonchio, discusso nella seduta del 9 alla presenza del Ministro Berti, sostenendo l'importanza degli studi pasteuriani e presentando un Ordine del giorno, che fu approvato all'unanimità: «Si propugna la necessità di rendere attuabile il più presto possibile, insistendo presso il Governo perché nomini una Commissione con speciale mandato, stabilendo al riguardo una conveniente somma, tanto l'incenerimento, cremazione degli animali morti od uccisi perché carbonchiosi, quanto la vaccinazione preventiva, quando però se ne sia resa ben irrefutabile la sua efficacia, col virus attenuato o vaccino del Pasteur, ove specialmente sì grave morbo regna enzooticamente».

veterinaria; ma con la progressiva disamina sui risultati ben presto i toni nei confronti di Pasteur cambiarono.

Lo stesso Pasteur, peraltro, nelle sue opere riconobbe che la S.V.P. non riuscì ad ottenere i risultati auspicati.

Per un singolare concorso di circostanze, capitò che, tra i fallimenti che avvennero, quello che ebbe maggiore risonanza fu quello della Scuola veterinaria di Torino.

Tutte le pecore vaccinate, come pure quelle non vaccinate, che fungevano da campione, morirono dopo l'inoculazione del sangue virulento.

Questo risultato mi sorprese molto. Appena ne ebbi conoscenza, scrissi al professore Domenico Vallada, direttore della Scuola veterinaria di Torino, domandando di farmi conoscere esattamente la data di morte delle pecore utilizzate per fornire il sangue carbonchioso per l'inoculazione virulenta, informandolo del fatto, che il sangue di una pecora morta dopo 24 ore era contemporaneamente settico e carbonchioso⁵.

L'8 giugno 1882, Pasteur, ribadì ufficialmente che la Scuola veterinaria di Torino aveva commesso l'errore di prelevare il sangue di un animale morto da più di ventiquattro ore⁶.

La S.V.P. si sentì costretta a rispondere, con altrettanta ufficialità, con una lettera circolare agli scienziati, ai giornali scientifici europei e allo stesso Pasteur⁷.

La lettera fu firmata da sei qualificati docenti della scuola torinese, ne riproduciamo uno stralcio significativo:

Siamo stupiti che la S.V. abbia potuto, da Parigi, riconoscere con una assoluta certezza la malattia che ha fatto tante vittime tra gli animali vaccinati, sottoposti all'inoculazione del sangue

⁵ Pasteur, *O.C.*, *ibid.*, pp. 442 - 443.

⁶ N.d. A. Ovvero erano presenti germi patogeni vari, come i saprofiti della putrefazione, oltre a quelli carbonchiosi.

⁷ Questa lettera è datata Torino, settembre 1882 viene firmata da: Vallada, Bossi, Brusasco, Longo, Demaschi, Venuta. Viene riportata, integralmente, nel *Bulletin et Memoires de la Société centrale de médecine vétérinaire*, vol. I, 1883, pp. 34-36.

carbonchioso, nella nostra Scuola, il 23 marzo 1882... .

Non ci sembra possibile che un esperto come lei possa affermare l'esistenza della setticemia su un animale che non ha mai visto... .

Né nel sangue della pecora che è stata utile per l'inoculazione di controllo, né in quello degli animali morti al seguito dell'inoculazione, noi abbiamo scoperto alcun segno di setticemia⁸.

Lo scienziato francese, a sua volta, non ebbe bisogno d'altro per la sfida sulla legittimità delle dichiarazioni, rispose perciò ai sei firmatari:

... essendosi sollevata una contestazione tra voi e me sull'interpretazione da dare all'assoluto insuccesso del vostro esperimento di controllo del 23 marzo 1882, intendo comunicarvi che, se siete d'accordo, verrò a Torino il giorno che voi mi indicherete; voi inoculerete, in mia presenza, il carbonchio virulento alle pecore, nel numero di pecore che riterrete opportuno.

Determineremo, per ognuna di loro, l'istante della morte e dimostrerò che il sangue di ogni carcassa, prima unicamente carbonchioso, sarà l'indomani contemporaneamente settico e carbonchioso.

Si potrà allora stabilire, con assoluta certezza, la totale correttezza dell'asserzione da me formulata l'8 giugno 1882 e contro la quale avete protestato a più riprese, corrisponda, non ad una opinione, come l'avete definita, ma ad un principio scientifico inconfutabile come abbia potuto legittimamente affermare, da Parigi, la setticemia, pur non avendo analizzato la carcassa della pecora che è servita ai vostri esperimenti.

Si redigerà il verbale, giorno dopo giorno, dei risultati che avremo ottenuto; tale processo verrà firmato dai professori della Scuola veterinaria di Torino e da medici e veterinari, o da altri

⁸ Pasteur, *O.C.*, *ibid.*, p. 454.

personaggi che avranno assistito agli esperimenti.

Infine, tutti i risultati saranno resi pubblici dalle Accademie di Torino e Parigi⁹.

La disponibilità di Pasteur non bastò a sedare le incertezze e i dubbi - ogni novità scientifica infatti viene sottoposta al vaglio sia dei risultati che porta in sé sia al metodo che ne consente l'estensione e l'applicazione generalizzata sia ai problemi etici, economici e ... alle resistenze della tradizione, che passa anche nelle convinzioni personali e ambientali - e si spiega così la controversia con il Peter che si interroga nella seduta dell'Accademia di Medicina di Parigi, il 27 marzo 1883

Le dottrine di Pasteur, sono di una certezza assoluta?

Ciò che è successo per la rabbia dimostra che Pasteur può sbagliare. Nella seduta dell'Accademia del 22 marzo 1881 il signor Pasteur ha riconosciuto che quella che aveva definito come nuova forma della rabbia non aveva nessuna relazione con la rabbia... .

Però Pasteur qualche tempo prima, non aveva esitato a credere di aver trovato una nuova forma rabbica. Dunque Pasteur si è veramente affrettato troppo nel completare gli esperimenti e non ha esaminato i risultati dell'esperimento della saliva di un bambino rabbico¹⁰.

Pasteur al centro delle novità ma anche delle obiezioni, fu costretto da una parte a riconoscere i suoi limiti ma dall'altra a precisare

Posso anche sbagliare!

Ma non accetto che mi si attribuiscono errori non miei! Ebbene! Negli Estratti che sto per citare non vedo inadempimenti «e lancio al prof. Peter la sfida di dimostrare la fondatezza delle sue dichiarazioni anche per una delle mie asserzioni».

È inesatto dire che per ciò che successe per la rabbia io mi

⁹ *Ibid.*, pp. 444 - 445.

¹⁰ *Ibid.*, pp. 445-446.

sia sbagliato; è inesatto dire che io annunciai di aver scoperto una nuova forma della rabbia; è inesatto attribuirmi un errore a causa di una avventatezza nelle conclusioni; infine, è inesatto sostenere che se io avessi ben valutato l'operato di un medico non mi sarei sbagliato, poiché, una delle particolarità del mio lavoro, consistette proprio nel rilevare un errore commesso da un medico, clinico di gran fama, il dottor Maurice Raynaud.

Se io dovessi avanzare un giudizio personale su un lavoro uscito dal mio laboratorio, io vi direi che, in qualche ricerca può essere, che non abbia applicato con rigore i principi del metodo sperimentale e che i miei collaboratori Chamberland, Roux e Thuillier, sono stati ancor più guardinghi. Per quanto attiene alla profilassi del carbonchio attraverso l'inoculazione del virus mortale attenuato, sembra che i coltivatori non abbiano tenuto in gran conto le resistenze formali e accademiche più o meno sistematiche.

Io constato, in effetti, che dal 1° al 10 aprile solamente, vale a dire nei dieci giorni passati dopo che la Lettura del 27 marzo del signor Peter è stata diffusa, più di 25.000 pecore, vacche, buoi o cavalli sono stati vaccinate. È più probabile che, nel solo mese corrente, le vaccinazioni supereranno il numero di 100.000. Non si accuseranno, io penso, i contadini di fare, a scapito del loro interesse materiale, del feticismo scientifico. Aggiungo che, attraverso i perfezionamenti apportati nella qualità dei vaccini e attraverso una migliore applicazione del metodo, che consiste principalmente nel non aspettare per la vaccinazione che i bestiami siano esposti al carbonchio, non c'è stato, che io sappia, dopo il mese di novembre, un solo animale che sia morto a seguito della vaccinazione...¹¹.

Il passo, appena citato, si apre ad una interpretazione che, per più punti, illumina l'orientamento pasteuriano su alcuni problemi non marginali:

- a) la prestigiosità, non soltanto accademica, nel puntualizzare ogni elemento di

¹¹ *Ibid.*, pp. 446 - 447.

critica sfavorevole; lo scienziato risponde da scienziato ma insieme, polemicamente, confuta le tesi che gli appaiono immotivate e obiettivamente disinformate, rilevandone la forzatura personale;

- b) riconosce che l'area delle sue scoperte non è stata totalmente circoscritta. C'è un intervento suo, del soggetto cioè, che va migliorato e definito - ma, aggiunge che tale problema non riguarda i suoi collaboratori; Pasteur sapeva bene che a Pouilly-le-Fort il ruolo dei suoi assistenti era stato determinante (e secretato) e che poteva accettare critiche soltanto rivolte a lui stesso in quanto responsabile del protocollo (e degli esperimenti) e così fornisce loro una copertura indiretta... .
- c) si affaccia qui l'orgoglio che poggiava sui risultati del suo vaccino e indirettamente anche dai vantaggi e guadagni economici che derivavano dalla sua produzione e eran solo per la Francia; la S.V.P. (e l'Italia) era chiamata a valutare la portata dell'efficacia del vaccino e non a insistere su, sia pur legittima è possibili, critiche di metodo e di teorie applicative;
- d) la concretezza delle argomentazioni sulle scelte degli allevatori corrisponde alla concretezza di Pasteur: la scienza non deve favorire tesi miracolistiche (o feticistiche) e che sono i fatti reali a decretare il "successo" di una scoperta scientifica;
- e) introduce anche il concetto di miglioramento del vaccino come strettamente connesso ai bisogni della zootecnia e ai suoi interessi di studioso.

Pasteur muovendo dalla soggettiva e poco attenta accusa di Peter circa le vaccinazioni carbonchiose, attraverso i virus attenuati, ebbe modo di ribadire col suo metodo di profilassi, uno standard applicativo coerente e riprese temi ricorrenti nelle discussioni in seno alla comunità scientifica e produttiva. Ciò non di meno la vis polemica investì la S.V.P. che con una nuova interrogazione di 17 pagine, propose a Pasteur di inviare da Parigi, per iscritto, spiegazioni supplementari relative al trattamento e alla produzione dei vaccini anticarbonchiosi.

Pasteur, come si poteva prevedere, non ritenne di venire incontro a questa richiesta, almeno in parte autoritaria, nella richiesta di spiegazioni per iscritto e la necessità perfino di dimostrare il tutto sperimentalmente, a Torino.

Appare evidente che quanto Pasteur aveva sollecitato (e riappare qui ancora la sua veemenza) ora non era più intenzionato a portare a termine; forse anche come strategia di disimpegno dalle numerose critiche interne e per non creare precedenti rischiosi per la sua immagine o forse perché era ben conscio che non era la sua presenza necessaria per provare la validità del suo vaccino.

Il 30 aprile 1883 la *querelle*, che ormai così va chiamata, col medico francese:

Rispondiamo quest'oggi soltanto alla lettera direttaci dalla S.V. Illustrissima in data 9 aprile 1883 - il cui contenuto però era stato già precedentemente strombazzato su pei giornali - perché, come Le scrisse il signor Direttore della Scuola veterinaria di Torino in data 16 aprile, si dovette attendere che uno di noi, interessato nella controversia al pari degli altri della Commissione, avesse fatto ritorno a Torino, donde era lontano per ragioni d'ufficio¹².

La disputa insorta tra la S.V. Illustrissima e noi sottoscritti, circa l'interpretazione da darsi ai risultati ottenuti nel pubblico esperimento di controllo il giorno 23 marzo 1882, verte intorno ad un punto particolare, che non deve essere dimenticato, e che perciò crediamo nostro dovere di rammentare, prima di far nostri i termini di intransigente opposizione alle vostre rimostranze. Mandataci dalla S.V. Illustrissima colla lettera precipitata. Il 23 marzo 1882, noi, prelevato il sangue dal cuore, appena aperto, di un ovino morto da più di 24 ore per carbonchio da noi provocato con sangue di bovino perito di carbonchio spontaneo, lo inoculammo a quattro pecore, un capro, due cavalli e due bovini, i quali erano stati vaccinati regolarmente due volte, il 9 e 22 febbraio, con vaccino speditoci dal signor Boutroux, osservando rigorosamente le istruzioni relative alla operazione della vaccinazione carbonchiosa date dalla S.V. Illustrissima.

Noi adoperammo, per l'esperimento di controllo, il sangue di quell'ovino, malgrado fosse morto da più di 24 ore, perché, il

¹² N.d.A. Sono sei i firmatari e quindi la S.V.P. ha molto probabilmente preso tempo per rispondere e non per attendere il ritorno di uno dei suoi membri.

corso ed i sintomi della malattia in esso osservati, del pari che le lesioni macroscopiche del cadavere e le alterazioni microscopiche del sangue, attestavano *soltanto* l'esistenza del carbonchio (*sang-de-rate*).

Il risultato dell'innesto di quel sangue carbonchioso fu, che i quattro ovini ed il capro morirono in 48 ore, e che sopravvissero alla prova i due cavalli ed i due bovini; vale a dire, che quel sangue carbonchioso fece perire degli animali vaccinati. Ed un tale risultato fu non molto diverso da quelli verificati in due esperimenti dai professori Gotti e Rivolta sugli ovini da loro vaccinati, che li videro perire per causa di carbonchio nella proporzione di due su tre, in seguito ad innesto di sangue carbonchioso recente e di virus forte. - Aggiungiamo che, nella prova di controllo da noi fatta, gli ovini erano stati uccisi unicamente dal carbonchio; la qual cosa fu constatata dal lato clinico ed anatomo-patologico, tanto macroscopicamente quanto microscopicamente, non solamente da noi, ma anche da altri medici e veterinari che assistettero all'esperimento.

Stimiamo ancora importante ricordare, che il sangue dello stesso ovino, morto da più di 24 ore, nel giorno 23 marzo 1882 è stato, per ragioni di confronto, inoculato a 5 ovini, 2 cavalli e 2 bovini *non vaccinati*, e che morirono in seguito a tale innesto, e per causa di pretto carbonchio, tutti i 5 ovini, uno dei cavalli ed uno dei bovini. Quindi è che, se noi confrontiamo i risultati ottenuti mediante l'inoculazione dello stesso sangue carbonchioso ad egual numero di animali vaccinati e non vaccinati, vi scorgiamo una differenza in favore della vaccinazione; imperocché mentre gli animali vaccinati morirono nella proporzione di cinque su nove, i non vaccinati perirono in quella maggiore di sette su nove; e per ciò, ragionando rettamente ed ammettendo come fondata l'opinione della S.V. Illustrissima a riguardo delle proprietà settiche del sangue da noi adoperato, dovremmo concludere che la vaccinazione riesce altresì a preservare dalla setticemia.

La S.V. Illustrissima in data 16 aprile 1882 scriveva al signor

Direttore della Scuola di Torino, che in tale stagione un montone morto per causa di innesto carbonchioso puro è, dopo 24 ore, di già carbonchioso e settico, e che il sangue contiene ad un tempo la *bactéridie charbonneuse et le vibrion septique*; ma probabilmente Ella, in quel giorno, non si ricordava più di aver affermato all'Accademia di medicina di Parigi, nella seduta del 17 luglio 1877, che «ce sang du cœur ne sera nullement virulent dans plusieurs parties étendues de son corps. - Le microscope ne signalera pas davantage dans ce sang la présence des vibrions septiques»¹³.

L'insegnamento, datoci in modo tanto esplicito dalla S.V. Illustrissima, ci rese maggiormente sicuri della esattezza delle osservazioni da noi fatte, e per ciò cercammo la spiegazione dell'insuccesso, relativo e non assoluto, come la S.V. Illustrissima giudicò, nella insufficiente energia del vaccino speditoci dal signor Boutroux, agente della S.V. Illustrissima per la vendita dei tubi di vaccini. E che ci fossimo bene orientati nel pensarla così, potemmo convincerci più tardi, quando la S.V. Illustrissima dichiarò, nella seduta dell'8 giugno 1882 della *Société Centrale de Médecine Vétérinaire* di Parigi:

... l'esperienza addimostrò che tale vaccino (di Pouilly-le-Fort) si era indebolito; disgraziatamente non è stato possibile accorgersene subito. Le vaccinazioni di dicembre, gennaio, febbraio (1882) e perfino quelle del principio di marzo sono state insufficienti ».

Orbene, se, ricordando questa dichiarazione, ed inoltre la confessione fatta dalla S.V. Illustrissima nella seduta del 17 luglio 1877 all'Accademia di Medicina di Parigi che «pendant quatre mois, nous n'avons pas réussi à obtenir un sang vraiment septique, c'est-à-dire que, dans aucun cas, la putréfaction étant abandonné e au hasard, sans ensemencement direct, le vibrion septique ne prit jamais naissance, au moins dans un état de

¹³ N.d.A. Il riferimento al 1877, sei anni da allora, sembra non voler considerare quanto è intercorso agli effetti della ricerca. La lettera, prosegue, con raffinata ironia rilanciando a Pasteur ma rovesciata, le sue stesse indicazioni, per mezzo delle formule di cortesia a profusione. E più sotto si trova modo di parlare di "confessione"!

pureté suffisante pour rendre le sang virulent» noi paragoniamo il suo contegno verso di noi con quello che Ella ha tenuto verso altri sperimentatori, i quali, alle prove di controllo degli animali vaccinati col vaccino del 1881, ottennero risultati poco diversi dai nostri, abbiamo ben ragione di essere molto sorpresi della differenza che vi scorgiamo. Noi rileviamo questo fatto non già per dolercene, ma semplicemente al fine di porre in evidenza la logica adoperata dalla S.V. Illustrissima, ed allo scopo di confermare una volta di più che noi avevamo ragione di qualificare arbitraria l'asserzione dalla S.V. Illustrissima formulata nel dì 8 giugno 1882 in seno della Società Centrale di Medicina Veterinaria di Parigi.¹⁴

Nella lettera, sono peraltro anche indicati specifici quesiti e interrogativi cui dovrebbe rispondere (e sottostare) Pasteur.

1° Quali caratteri microscopici precisamente presenterà, *secondo il suo avviso*, il sangue degli ovini preso direttamente dal cuore, quand'esso sarà settico e carbonchioso ad un tempo; non avendo noi nel sangue ovino adoperato il 23 marzo 1882 per l'innesto di controllo, né negli animali periti in conseguenza del suo innesto, trovati i caratteri microscopici che sono generalmente dati dai cultori le scienze mediche come caratteristici della setticemia;

2° Quale sarà, *secondo la sua opinione*, il genere ed il corso della malattia, e quali le alterazioni macroscopiche e microscopiche, che si dovranno riscontrare negli animali ovini e bovini, che si facessero ammalare, ed anche morire, mediante l'innesto del detto sangue, sperimento, che sarebbe pure da farsi a complemento di quello proposto dalla S.V. III..

Noi non dubitiamo che Ella troverà sicuramente onesta ed opportuna la nostra prima domanda, se si compiacerà di riflettere, che di setticemia se ne ammisero parecchie sorta, e che intorno ad alcune forme di essa presero qualche abbaglio

¹⁴ *Rassegna. Vaccinazioni carbonchiose* in *Medicina veterinaria e zootecnia*, 1883, pp. 219-223.

sperimentale anche illustri, non esclusa la S.V. Illustrissima, come risultò dalle discussioni scientifiche, che sopra tale argomento ebbero luogo in questi ultimi tempi.

Ed incliniamo a pensare che la S.V. Illustrissima di buon grado accoglierà altresì la nostra seconda proposta; se non si facesse l'inoculazione del sangue, che Ella sarà per indicarci per settico e carbonchioso, ad altri animali (ovini o bovini), non si potrebbe avere la prova sperimentale che esso fosse per operare quale agente d'infezione settica, piuttosto che quale agente d'infezione carbonchiosa. Un tale esperimento pare a noi di capitale importanza per la soluzione della questione di cui ci occupiamo; tanto più che da noi non si ignora che in tali condizioni del sangue, giusta le affermazioni espresse dalla S.V. Illustrissima nella *Comunicazione fatta all'Accademia di Medicina di Parigi il 17 luglio 1877*, succederebbe *le non développement de la bactériidie charbonneuse, quand elle est associée à d'autre organisme, aérobies ou anaérobies, peu importe, puisque les uns et les autres peuvent soustraire l'oxygène*; e sebbene di fatto Ella coll'inoculare sangue di cavallo e di vacca contenenti ad un tempo *les bactériidie charbonneuse* e i *vibrions de putréfaction* abbia prodotto la morte *sans bactériidies*.

Noi pensiamo diversamente dalla S.V. Illustrissima sopra quest'argomento di patologia, non solamente perché le osservazioni precise da noi fatte nell'esperimento del 23 marzo 1882 hanno fatto nascere in noi le convinzioni che abbiamo a più riprese manifestate; ma eziandio perché queste hanno per fondamento non poche esperienze da noi fatte con sangue settico, carbonchioso e non, le quali a suo tempo saranno rese di pubblica ragione.

Infine, preghiamo la S.V. Illustrissima di voler credere, che noi facciamo ardenti voti per il trionfo della sua scoperta, e, conseguentemente, Le auguriamo che possa in tutti i casi rendere ragione degli insuccessi, tanto mascherati quanto confessati, occorsi anche ai suoi più fervidi ed interessanti

apostoli; tra i quali ci piace di citare il prof. E. Perroncito, scopritore di un vaccino antracifero nazionale italiano, specialmente adatto per gli animali bovini, e di gran lunga migliore di quello preparato dalla S.V. Illustrissima; il quale vaccino, quando non uccide, produce effetti preservativi perfetti mediante una sola vaccinazione, e cura altresì i bovini che trovansi già in preda a carbonchio grave, come si può desumere dalla *Comunicazione* fatta dal prelodato professore, il 3 dicembre 1882, alla Reale Accademia dei Lincei¹⁵.

La Commissione:

Vallada - Bassi - Brusasco - Longo

Demarchi - Venuta

Ed ancora, il 14 maggio 1883, dalla Commissione S.V.P. a Pasteur; nella lettera, con un'accentuata forzatura polemica iniziale, si definisce il motivo del confronto: la S.V.P. vuole vedersi riconosciuta ufficialmente una critica all'affermazione di Pasteur ed ottenere così una clamorosa attestazione di prestigio scientifico (anche se il problema, va detto, è tutto all'interno del mondo scientifico e non incrina la sostanza della scoperta del vaccino.

Noi abbiamo l'onore di dichiarare che la vostra lettera del 9 c.m., che abbiamo ricevuto oggi, ricorda un duellante, che sfida tutti quelli che osano contraddirlo o anche guardarlo in faccia e che ha l'abitudine di riservarsi la scelta delle armi e di obbligare i suoi avversari a battersi con le mani legate.

In simili condizioni, come noi non siamo gli ignoranti che voi ingenerosamente supponete che siamo, riteniamo che non sarebbe serio occuparci qui della vostra sfida tanto che voi vi siete sentiti autorizzati a fornire una risposta categorica alle modeste domande della lettera che vi abbiamo spedito il 30 aprile scorso.

¹⁵ *Rassegna. Vaccinazioni carbonchiose, ibid., 223 - 225.*

Un'identica comunicazione fu fatta al Congresso Medico di Modena, ne ha riferito la *Gazzetta di Piacenza*, riportando le seguenti parole del prof. Perroncito:

«Un centinaio di bovini, di cui uno gravemente malato, erano stati vaccinati col mio liquido; quarantuno col vaccino debole Pasteur; quindici animali rimasero da vaccinare. Dei primi non si ebbe un solo insuccesso e nessuno più contrasse il carbonchio; dei secondi qualcuno morì ancora di carbonchio, come si ammalarono pure di carbonchio i bovini non vaccinati».

P.S.

Non temete di complicare la discussione indicando al pubblico tutte le osservazioni e le citazioni sbagliate che voi dite, arbitrariamente, essere contenute nella suddetta lettera e siate convinti che facendo questo avete soddisfatto uno dei nostri desideri più fervidi, perché se la discussione resterà nell'ambito della scienza in quanto tale, come noi speriamo, risulterà che non siamo noi, ma voi a esservi fortemente sbagliati nelle vostre asserzioni a nostro riguardo¹⁶.

La lettera inizia in modo aggressivo e finisce con una richiesta (legittima) di discussione senza forzature opinabili, affermando il principio dell'obiettività con un poscritto assai provocatorio.

Pasteur con una *Comunicazione* all'Accademia delle Scienze di Parigi nella seduta del 21 maggio 1883, sulla vaccinazione carbonchiosa non rispose, alla Scuola veterinaria e di fatto scavalcandola, confermò le sue conclusioni contrarie:

«La Commissione di Torino adunque non accetta ch'io mi rechi presso di essa.

Se l'Accademia si compiacerà di riferirsi alle Note da me pubblicate nel 1877 sopra il carbonchio e la setticemia, non durerà a fatica a pensare, che io mi sono inoltrato in questa discussione con una completa certezza di riuscita.

Forse non è cosa priva d'interesse ch'io dia quivi una prova ancora dello sbaglio della Commissione di Torino.

Io avevo pregato uno dei miei giovani collaboratori, il signor Roux, il quale rappresenta specialisticamente nel mio laboratorio le cognizioni mediche e patologiche, di accompagnarmi a Torino. Siccome però il signor Roux non era ancora nel 1877 addetto al mio laboratorio, quand'io, dapprima insieme al sig. Joubert e quindi assieme ai signori Joubert e Chamberland, ho individuato la presenza della setticemia dopo

¹⁶ *Ibid.*, pp. 454 - 455.

la morte e le relazioni che essi hanno col carbonchio, ho suggerito di approfondire in questo genere di studi prima della nostra partenza, affinché non ci fosse alcun dubbio nelle dimostrazioni che avremmo fatto dinanzi alla Commissione di Torino. Il 5 maggio corrente, ed alle ore 7 antimeridiane, muore un montone per causa di carbonchio inoculato. La temperatura media era di 11°; la sera e la notte furono relativamente più calde e anche turbate da temporali. Il 6 maggio, precisamente 26 ore dopo la morte, facemmo l'autopsia del montone e la raccolta di sangue dal cuore; seminammo una goccia di tal sangue in brodo sterilizzato, una parte a contatto dell'aria e un'altra in tubi proprii a far il vuoto. Inoltre lo stesso sangue fu inoculato a un altro montone (*neuf*). All'indomani *la coltura con aria forniva i batteri carbonchiosi, che inoculati a due cavie le fece perire di carbonchio puro*. La coltura nel vuoto fu al contrario settica, ed essa, inoculata a due, le fece perire di setticemia acuta in meno di 24 ore; anche il montone inoculato col sangue del cuore morì egualmente settico l'indomani dell'inoculazione. In poche parole: quando un montone muore di carbonchio, e quand'esso è già divenuto ad un tempo carbonchioso e settico, si ricavano facilmente dal suo sangue il carbonchio ed il suo microbo e parimenti la setticemia ed il suo microbo. Il contatto dell'aria col liquido di coltura, se pure in sottile strato, impedisce la formazione di vibrioni settici, perché questi sono anaerobi; se la presenza dell'aria provoca lo sviluppo dei batteri, la stessa aria distruggerebbe i vibrioni se potessero formarsi. La coltura nel vuoto, oppure in presenza di azoto o di acido carbonico puri permette loro, al contrario, di svilupparsi e il batterio carbonchioso non può far a meno dell'ossigeno dell'aria per moltiplicarsi. Queste analisi è altrettanto sicura, è più veloce di un'analisi chimica, che ci saremmo risparmiati di eseguire nel sangue del cuore del montone, all'indomani della sua morte, alla presenza della Commissione della Scuola di Torino. Esiste un'altra maniera meno precisa e più soggetta ad opinione di studiare un sangue che sia insieme carbonchioso e settico, ed è

l'inoculazione diretta del sangue ad animali di razze diverse, cavie, conigli, montoni, senza aver separato i due microbi contenuti nel sangue. In tal caso, a seconda delle recettività degli individui inoculati e a seconda delle relazioni di sviluppo delle due malattie nel sangue doppiamente infettante, *vedesi apparire ora il carbonchio puro*, ora la setticemia pura, ed ora la setticemia ed il carbonchio associati. Accade pure che, nel corso dei sintomi che succedono all'inoculazione, si veda tal volta l'una delle due malattie sostituirsi all'altra. Tale cavia morrà, ad es., carbonchiosa dopo d'aver manifestato prima sintomi settici e può egualmente presentarsi il caso inverso. I miei onorevoli colleghi della Scuola di Torino vorrebbero restare sul terreno della scienza pura; sebbene la loro lettera del 14 maggio non miri gran ché in questo senso, pure agevolmente vi perverranno col ripetere gli esperimenti sopraddetti; ed aggiungo che, nella stagione calda in cui siamo, il sangue di montone all'inizio esclusivamente carbonchioso sarà settico e carbonchioso dodici o quindici ore soltanto più tardi. Se si aspetta che si evidenzi una putrefazione più generale possono comparire altre setticemie, segnatamente una setticemia molto più putrida di quella, di cui ho testé discorso, la quale accompagna la putrefazione avanzata. I signori professori della Scuola di Torino dichiarano in un *post-scriptum* alla loro lettera del 14 maggio, che io darei soddisfazione ad uno dei loro più fervidi voti, se volessi indicare al pubblico le asserzioni e citazioni erronee contenute nella loro lettera del 30 aprile. Non posso rifiutarmi di corrispondere al loro desiderio. Un solo esempio basterà senza dubbio ad appagarli. Io leggo nella lettera del 30 aprile 1883:

La S.V. Ill.ma in data 16 aprile 1882 scriveva al signor Direttore della Scuola di Torino, che in tale stagione di marzo un montone morto per causa d'innesto carbonchioso puro è, dopo 24 ore, di già carbonchioso e settico, e che il sangue contiene sia il batterio carbonchioso sia il vibrione settico. Io non ho mai scritto ciò a riguardo di un animale morto da 24 ore. Ecco cosa realmente si legge nella Nota del 1877 citata da questi

signori: parlando del vibrione settico «l'expérience suivante - dicevo io - facile à reproduire, démontre bien que ce vibron passe dans le sang, en dernier lieu, dans les dernières heures de la vie ou après la mort. Un animal va mourir de la putridité septique qui nous occupe, car cette maladie devrait être définie, la putréfaction sur le vivant ; si on le sacrifie avant sa mort et qu'on inocule d'une part la sérosité qui suite des parties enflammées ou la sérosité intérieure de l'abdomen, ces liquides manifesteront une virulence extraordinaire ; qu'en même temps, au contraire, on inocule le sang du cœur recueilli avec le plus grand soin, afin de ne point le souiller par le contact de la surface extérieure du cœur ou des viscères, ce sang ne sera nullement virulent, quoiqu'il soit extrait d'un animal déjà putride dans plusieurs parties du corps».

Da questa citazione risulta, che i professori della Scuola di Torino confondono i dati della mia lettera dell'11 aprile 1882, concernenti *un montone morto da 24 ore*, a ciò ch'io dissi nel 1877 di un animale settico *sacrificato prima della sua morte naturale*.

È certamente scorretto (e sconveniente) commettere errori di interpretazione quando essa è così evidente¹⁷.

La S.V.P. polemizza nel già citato, *Polemica sulla vaccinazione carbonchiosa - Del dogmatismo Scientifico dell'illustre prof. Pasteur e dell'uso che se ne può fare*, si sofferma sulle rivisitate convinzioni teoriche del medico francese circa la malattia settica e carbonchiosa.

I veterinari torinesi sottolineano il fatto che Pasteur ammise finalmente che, l'inoculazione di sangue carbonchioso e settico ad un tempo poteva, a seconda della ricettività dell'animale inoculato, e in base alle relazioni delle due malattie nel sangue doppiamente infetto, produrre tanto il carbonchio puro, tanto la setticemia pura, così come la setticemia ed il carbonchio associato.

Pasteur in tal modo derogava a quello che gli stessi torinesi definirono dogma - *del non sviluppo del bactériidie charbonneuse quando veniva associato ad altri organismi, aerobi o*

¹⁷ *Polemica sulla vaccinazione carbonchiosa - Del dogmatismo scientifico dell'illustre prof. Pasteur e dell'uso che se ne può fare*, Giornale di Medicina veterinaria e di Zootecnia, G.B. Mazzini, Torino, 1883, p. 360-364.

anaerobi, riconoscendo così la possibilità dell'insorgenza del carbonchio anche sul sangue prelevato da un animale morto da più di ventiquattro ore.

I veterinari torinese per sconfessare lo scienziato francese e le sue erronee convinzioni teoriche citano quanto da quest'ultimo affermato durante la Comunicazione del 17 luglio 1877

On peut introduire à profusion dans un animal la bactérie charbonneuse sans que celui-ci contracte le carbon. Il suffit qu'au liquide qui tient en suspension la bactérie on ait associé en même temps des bactéries communes.¹⁸

La S.V.P. polemizza su questioni che interessano, non il vaccino in sé, ma le variabili che intervengono nei processi infettivi inerenti il post-mortem, Pasteur rileva una imperfetta informazione della S.V.P. e quest'ultima riferisce di Pasteur una attenzione inadeguata alle cause di morte delle cavie; sembra più essere una questione di dettagli che di sostanza, derivata dall'urgenza di proseguire la ricerca scientifica nel più generale contesto della nuova scoperta (Pasteur).

La ricerca prosegue e bisogna difenderla sia dal dogmatismo (improduttivo e rigido) sia dalle acquisizioni estemporanee (devianti ed instabili).

Il merito reale della S.V.P. va attribuito, non alle sottolineature antipasteuriane, ma alla prosecuzione, della ricerca e nei vari esperimenti che permisero di ricavare l'esistenza di diverse forme di setticemia, benigne e virulente, soprattutto scoprendo che il sangue ovino e bovino carbonchioso o non carbonchioso, la carne in via di putrefazione, contenente i vibrii settici, nel senso inteso dal Pasteur, potevano anche non produrre il carbonchio puro o la setticemia pura, né l'uno e né l'altra associate; accanto ai tre risultati riportati da Roux (carbonchio, setticemia, carbonchio e setticemia associati), ne andasse riportato un quarto, quello che dava risultati completamente negativi.

Dunque la Scuola torinese non aveva più motivo di proseguire nella polemica con Pasteur e il prof. Bassi poteva così confermare, con i risultati positivi delle inoculazioni preventive dei francesi, tre dati fondamentali e assiomatici:

1. Il bacillus anthracis era l'elemento specifico del carbonchio ematico; 2. il carbonchio ematico era una malattia non soggetta a recidiva; 3. I bacilli, attenuati

¹⁸ *Ibid.*, pp. 368-369.

secondo la pratica di coltura pasteuriana, trasmettevano ai loro discendenti la loro energia virulenta ridotta al grado nel quale era stata arrestata presso gli ascendenti, creando così razze di microbi controllabili ottenendo dunque un significativo avanzamento nella ricerca.

In Italia, le riserve circa il metodo vaccinale pasteuriano non erano relative alla sola Scuola veterinaria torinese; nel 1883, furono pubblicati i risultati sperimentali di una *Commissione per lo studio della vaccinazione carbonchiosa* presieduta dal prof. Ercolani e composta dai proff. Rivolta, Perroncito, Gotti, la quale, rispondendo a quesiti di ordine scientifico e pratico, ampliava il campo di indagine e rispondeva ad aspetti irrisolti quali gli insuccessi ancora presenti nella pratica vaccinale e il problema derivante dal fatto che, il vaccino proveniente dalla Francia - per quelle operazioni di sfruttamento del brevetto di cui ho detto prima - alterarsi a causa del troppo lungo tempo connesso alla spedizione; tale problema non era ignoto allo stesso Pasteur se, nella seduta dell'8 giugno 1883, della Società veterinaria centrale di Francia affermava:

i primi vaccini usati nei mesi di novembre e dicembre 1881, gennaio, febbraio e prima metà di marzo 1882, alla prova si sono mostrati deboli, per cui in Francia si ebbero delle perdite, quando, nelle pecore che avevano ricevuto il vaccino n° 1, si inoculò il vaccino n° 2¹⁹.

Da qui l'obbligo di Pasteur di dar vita a nuovi vaccini con una virulenza ben più significativa ed utile.

L'applicazione su larga scala delle vaccinazioni carbonchiose seguirono il riconoscimento della scoperta pasteuriana riguardo l'attenuazione dei virus; al contempo si capì che la ricerca teorico-pratica poteva proseguire sulla scorta dei risultati che la nuova scienza, la microbiologia aveva fornito.

A Milano il dott. Ciro Griffini fu incaricato dalla omonima Veterinaria milanese di riferire i risultati circa gli esperimenti eseguiti da lui nel loro Istituto.

Ecco in sintesi l'esperimento vaccinale anticarbonchio:

¹⁹ Ercolani, Rivolta, Perroncito, Gotti, *Relazione della Commissione per lo studio della vaccinazione carbonchiosa*, in *Giornale di Medicina veterinaria pratica*, 1883, pag. 116.

Le inoculazioni vennero eseguite dal prof. Guzzoni coi liquidi e secondo le istruzioni del Pasteur. La prima, col liquido preservativo N. 1 ebbe luogo il 26 febbraio alle ore 12.45 pomeridiane sopra 5 vacche, 4 pecore, 4 conigli ed 1 cavallo, il quale però trovatosi avviato al marasmo (...).

La seconda vaccinazione fu praticata col liquido preservativo Pasteur N. 2, nel giorno 12 marzo, sopra gli animali superstiti, e cioè: 5 vacche, 2 pecore, 1 coniglio ed il cavallo²⁰.

Gli esperimenti compiuti ebbero risultati che non collimavano con quelli dello scienziato francese, in particolar modo dopo la seconda vaccinazione non si verificò stato febbrile. I ricercatori attribuirono la variazione di stato al vaccino alterato o troppo debole; pertanto, in accordo con la Commissione, optarono per una seconda inoculazione con lo stesso preparato pervenuto.

La Scuola, milanese, dopo innumerevoli esperimenti, giunse a considerazioni non omogenee sull'efficacia della vaccinazione carbonchiosa: essa rispondeva a necessità e validità per gli ovini, mentre per i bovini erano sollecitate ulteriori esperienze; mancavano cioè i dati sufficienti per poter dare un motivato e decisivo giudizio sugli esperimenti e sul vaccino in senso stretto.

Tuttavia la Commissione ritenne di avere prove sufficienti per esprimersi favorevolmente circa l'estensione del metodo pasteuriano su vasta scala sotto la sorveglianza di un'altra apposita Commissione governativa che si giovava dei contributi della fisiologia, della chimica, della medicina veterinaria e dell'agricoltura.

Anche a Bologna, il prof. Alfredo Gotti, della Scuola veterinaria presentò, il 26 marzo 1882, una relazione sulle inoculazioni preventive contro il carbonchio con l'utilizzo del metodo Pasteur; egli comunicò i risultati sugli esperimenti per la vaccinazione carbonchiosa; i vaccini già utilizzati con le caratteristiche e le modalità della Scuola di Milano.

La mancanza di congruenti risultati non consentì di proseguire con le vaccinazioni.

Gotti riconobbe di essere in dubbio circa il metodo pasteuriano e attribuì l'insuccesso all'utilizzo di vaccini troppo *deboli*, conseguentemente la pratica della

²⁰ Polemica sulla vaccinazione carbonchiosa, *ibid.*, p. 466.

vaccinazione carbonchiosa, non poggiava sulla doverosa sicurezza dei risultati, propose però a Pasteur la preparazione di un vaccino con forza preservativa sufficiente oppure lo stesso Pasteur doveva indicare con certa precisione come l'attenuazione del carbonchio andasse ottenuta.

Alla Scuola veterinaria di Pisa i risultati furono resi noti dal prof. Rivolta; in una prima prova di controllo, fatta col virus forte, sopra ovini vaccinati regolarmente due volte, vide morire quattro pecore sopra sei, e notò intensa febbre nelle due sopravvissute; alla seconda prova di controllo i risultati migliorarono: adoperò sangue di coniglio morto di carbonchio in quantità eguale a quella del vaccino adoperato.

Gli animali sottoposti alla prova ovvero due vitelle e cinque pecore vaccinate tre volte, sopravvissero, una capra non vaccinata morì ed un cavallo malato di farcina o morva, malattia letale per gli equini, sviluppò un enorme tumore nel sito dell'iniezione.

Ancora una volta apparivano dubbi e incertezze sull'applicazione pratica del vaccino pasteuriano. Occorre però tener conto che, se l'intuizione scientifica si condensa nella scoperta, e ne è sempre, con il momento conclamato o definitivo, il fulcro di un processo; la scoperta scientifica è iniziale fondamento pratico, ma anche massimamente teorico per i passaggi successivi.

La scoperta, sollecita nuove ricerche, inventa tecnologie o le predispone a intervenire con applicazioni in altri settori non solo di profilassi o di terapia; anche per la ricerca medica esiste un indotto, si direbbe oggi e a ragion veduta.

Il metodo pasteuriano non poteva essere perfetto e le varie Scuole veterinarie avevano buon gioco a rilevare i difetti ma certamente codeste se, si mossero su un terreno che era stato sgombrato e seminato, contribuirono enormemente ad estendere pratiche mediche rinnovate, a modificare le produzioni zootecniche e a incrementarne il patrimonio.

La scienza era più che mai in grado di cambiare il mondo anche se tristi abusi, abominevoli potevano produrre la identificazione tra distruzione dei microbi e distruzione dei popoli, applicando concetti irrazionali, ignoti alla scienza stessa e alla sua deontologia come riuscivano tragicamente a fare dichiaratamente il nazismo hitleriano e i molti, più o meno mascherati, regimi totalitari che lo hanno preceduto (e

seguito).

Con Pasteur, e gli altri microbiologi tutti, si apriva il campo per l'esperimentazione e la "creazione" di specie viventi che potevano incidere sulla concezione stessa di vita dell'umanità e a proporre i recenti e ancora irrisolti problemi della bioetica.

IV.1 Il contributo italiano del prof. Edoardo Perroncito

Edoardo Perroncito (1847-1936), terminati gli studi secondari vince un concorso per un posto gratuito all'Università di Torino, iscrivendosi alla Regia Scuola Superiore di Medicina Veterinaria; laureatosi, esercitò la professione di medico veterinario municipale a Torino, poi assistente nell'Istituto di anatomia patologica e patologia generale diretto da Sebastiano Rivolta; nel 1873, gli subentra e viene nominato Ordinario di Anatomia patologica.

Nel 1869, Perroncito aveva iniziato ad interessarsi della patologia animale alla Scuola veterinaria di Torino; nel '79 assume la cattedra di parassitologia presso la Facoltà di Medicina e chirurgia di Torino, la prima in Italia.

Proseguì nelle ricerche della nuova scienza microbiologica: vanno ricordati i suoi contributi alla microbiologia del vino, della birra e delle acque, allo studio delle malattie dell'allevamento del baco da seta.

Nel '97 si occupa di una malattia infettiva che colpiva prevalentemente i minatori del traforo del San Gottardo, individuandone eziologia e cura, l'estratto etero di felce maschio; ricevette numerosi riconoscimenti nazionali e internazionali: dal premio Montyon dell'Accademia delle Scienze francese alla Legion d'onore e numerose palme accademiche.

Perroncito si occupò anche del carbonchio, pubblicando numerosi articoli sulla sua eziologia e sui metodi vaccinali utilizzati; nel 1887, grazie al suo personale apporto, contribuì ad iniziare in Italia la pratica della vaccinazione carbonchiosa; su incarico del Governo italiano, per un lungo periodo di tempo Perroncito, si trasferì all'Istituto pasteuriano di Parigi, dove approfondì le tecniche metodologiche vaccinali di Pasteur, con il quale sviluppò una collaborazione stretta e amichevole, e che, oltre a durare nel tempo, gli consentì di predisporre le condizioni per operare proficuamente al suo rientro in Italia; a Torino, coi contributi francesi, fondò il "Laboratorio Pasteur", prendendo così le distanze dalla Scuola veterinaria torinese e dagli impegni che ne erano derivati.

Il preparatore del vaccino in Italia fu l'allievo di Perroncito, prof. Airoidi che, nel 1889, in seguito alla nota polemica dell'Agro Romano, di cui in seguito si darà conto, prese il posto del suo maestro come direttore dell'Istituto.

L'efficacia e la continuità dei contatti con Pasteur indussero Perroncito ad accogliere, il 14 gennaio 1882, l'offerta del dottor Rizzetti, Direttore dell'Ufficio d'Igiene di Torino, di vaccinare il bestiame di sua proprietà a Mongreno, località poco distante da Torino.

Furono predisposte le iniziative non solo per procedere alle vaccinazioni - la 1^a il quattordici gennaio, la 2^a il ventisei dello stesso mese - ma, sicuri del risultato, si tenne anche una Conferenza il 27 gennaio, sulle vaccinazioni anticarbonchiose; il concorso del pubblico, mediante un'accurata pubblicità dell'esperimento, dette all'evento risonanza alla positiva conclusione tanto che lo stesso Pasteur poté complimentarsi dei risultati con un telegramma:

«Je vous félicite mon cher confrère, de votre succès. Compliments empressés».

Il successo fu evidente, parte della comunità scientifica però era poco convinta sull'uso delle vaccinazioni laddove la malattia infettiva non era presente, come a Mongreno

Quando udimmo che il prof. Perroncito aveva scelto per primo piano delle sue osservazioni *Mongreno* e che il cav. Dottore Pizzetti gli aveva messo a disposizione il suo bestiame per le vaccinazioni, non potemmo fare a meno di sentire un senso di meraviglia per l'imprudente audacia del citato professore, e di ammirazione per la fede illimitata del lodato dottore in un trovato, che non era ancora stato sottoposto ad alcun controllo in Italia, e che avrebbe potuto essere un'illusione di fanatismo scientifico, o pel modo della *reclâme* e della vendita del vaccino una speculazione industriale.

[...] Intanto ripetiamo quanto abbiamo scritto nel precedente numero; agricoltori, colleghi, siate prudenti! Attendete che la scoperta Pasteur sia controllata nelle scuole veterinarie prima di azzardarvi a diffonderla e farla praticare²¹.

Perroncito attestò la durata della facoltà germinativa delle spore, che rimanevano vive e capaci di malattie mortali anche a distanza di decenni; che erano suscettibili di

²¹ *Le vaccinazioni carbonchiose ed il carbonchio* in *Zootecnico*, 1883, pp. 302-305.

una graduale attenuazione nella loro virulenza, per mezzo della temperatura e dell'ossigeno.

Perroncito proseguì ben oltre il metodo pasteuriano, sperimentandone e modificandone l'applicazione con la riduzione delle due vaccinazione ad una sola, contravvenendo alle disposizioni del Consiglio superiore di Sanità (1884), che proibiva metodiche vaccinali diverse da quelle pasteuriane.

Durante la manipolazione di queste due variabili era possibile, dopo circa 20 giorni dal trattamento la trasformazione completa del virus in vaccino innocuo; questo metodo non era altro che quello intrapreso da Pasteur che rendeva refrattari gli animali.

Perroncito riprese inoltre la teoria pasteuriana sui mezzi di trasmissione del carbonchio, adottando la tesi sulla trasmissione dei germi, attraverso il lombrico che, dalle viscere della terra, quando erano contaminati gli strati superficiali, riportava il virus nei pascoli; per quanto concerne la cura e la profilassi di questa malattia infettiva ripropose l'utilizzo di soluzioni acide, quali l'acido solforico o fenico, pratiche non nuove nella ricerca scientifica internazionale; incaricato di studiare i mezzi più efficaci per disinfettare i carri ferroviari adibiti al trasporto del bestiame, già dal 1881 aveva proposto di utilizzare una soluzione di acido solforico diluito nell'acqua al 5 0₁₀, ma la proposta non ebbe seguito per il timore che l'acido potesse deteriorare il materiale.

Il metodo vaccinale di Pasteur (e di Perroncito), continuò ad essere al centro di contrasti polemici come testimonia un articolo della *Gazzetta del Popolo* dall'eloquente titolo *Barbarie ricorsa*, nei confronti dei veterinari torinesi, rei di porre ostacoli all'esecuzione di esperimenti volti a testare il metodo pasteuriano.

Il prof. Vallada, allora direttore della Scuola volle puntualizzare la Sua posizione in merito a questa polemica, rimarcando il fatto di aver, tramite il prof. Brusasco, chiesto al Governo uno stanziamento di fondi per ripetere gli esperimenti col suddetto metodo.

Nonostante i successi ottenuti da Perroncito nelle vaccinazioni carbonchiose, la polemica circa l'utilità di queste pratiche continuò a lungo da parte della comunità scientifica e delle autorità politiche preposte; fu necessaria una netta presa di posizione sua quando, nel 1889, si riaccese una disputa con l'onorevole Tommasi-Crudeli e col dottor Celli, circa l'opportunità di avviare una vaccinazione, a Civitavecchia, con la collaborazione del dottor Forno, medico-veterinario; in particolare, si mise in discussione che, nell'Agro romano, vi fossero casi di carbonchio; sebbene Perroncito,

già avvalendosi degli Atti del IV Congresso medico veterinario italiano, Roma maggio 1876, aveva potuto invece dimostrarne l'utilità.

Ecco in sintesi cose disse Tommasi-Crudeli nella Nota presentata alla Reale Accademia dei Lincei, *La inoculazione preventiva del carbonchio in campagna di Roma*:

[...] Se non che fedeli ai precetti dell'illustre inventore, io ho sempre raccomandato di praticare la vaccinazione carbonchiosa soltanto nelle località nelle quali il carbonchio già esiste, ed ha presa forma epizootica.

[...] Stando così le cose, era naturale che io mi opponessi nel 1883 alla vaccinazione carbonchiosa degli armenti dell'Agro, dove il carbonchio *non esiste*; ed a più forte ragione mi vi opponessi ora, dappoiché tutti gli uomini competenti della Commissione sanitaria municipale e del Consiglio sanitario provinciale di Roma da un lato, ed i membri della Commissione per le malattie del bestiame istituita dal Ministero di agricoltura dall'altro, hanno finito col riconoscere *la non esistenza del carbonchio in Campagna di Roma*²².

La vaccinazione carbonchiosa su vasta scala dunque, veniva ancora guardata con sospetto: la consapevolezza dei grandi miglioramenti resi alla zootecnia (e alla sua economia) si scontrava col preconcetto che il vaccino avrebbe potuto far scoppiare epidemie laddove il carbonchio non era mai stato rilevato.

In data 17 settembre 1886 il Ministero d'Agricoltura, riconoscendo in toto il metodo pasteuriano emanò una Circolare con la quale concedeva il vaccino gratuito e le siringhe occorrenti a metà prezzo, incaricando della distribuzione le Scuole superiori di medicina veterinaria di Bologna, Milano, Napoli, Pisa e Torino.

Il Governo italiano infine, emanò diverse Leggi di polizia sanitaria per porre rimedio alle ricorrenti epidemie: l'articolo 55 della Legge n. 22 del dicembre 1888 ed il 5849

²²Tommasi-Crudeli, *La inoculazione preventiva del carbonchio in campagna di Roma*, A proposito di un supposto progetto di vaccinazione carbonchiosa nell'Agro romano, Candeletti, Torino, 1889, pp. 151-152.

modificato dall'art. 1 della Legge del 26 giugno 1902, n. 272 e dagli artt. 1-5 35-39 dell'Ordinanza di polizia veterinaria del 3 marzo 1904 del Ministero dell'interno - recitavano che bisognasse, in caso di carbonchio, far denuncia al Sindaco cui era conferito il potere di prendere alcune decisioni tra le quali, l'isolamento dell'animale ed il sequestro della stalla; informarne il Prefetto che, sentito il Consiglio provinciale sanitario, emanava il Decreto dichiarante l'infezione, con i relativi provvedimenti; anche la revoca del Decreto era compito del prefetto, trascorsi 10 giorni dalla guarigione o morte dell'ultimo caso.

Alcune riflessioni personali (conclusive e provvisorie)

Se la Creazione è, *tout court*, sempre miracolosa, si potrebbe definire “scoperta scientifica” la intuizione di un singolo (o di un gruppo) rispetto ai contenuti esistenti (contesto tradizione) e la proiezione di sviluppo (contesto rivoluzione) nel settore sotto esame: il contesto, in tal modo fornirebbe il parametro per individuare in termini corretti e necessari la scoperta stessa.

La ricostruzione contestuale delle controversie sull’eziologia e profilassi della malattia carbonchiosa colloca in primo piano, con i protagonisti, la tecnologia e le risorse teoriche e metodologiche disponibili; se scienziati come Pasteur producono la scoperta o Koch, conoscere quanto apparteneva al loro bagaglio culturale (*background*) serve per valutare la “scoperta”, le loro scoperte e i livelli di priorità assegnabili.

Le fonti primarie, dirette e indirette (ovvero quella per sé non per testimonianza del fatto) rappresentano uno strumento indispensabile per la conoscenza integrale dell’evento; i Cahiers de laboratoire di Pasteur si propongono con caratteristiche ambivalenti poiché i resoconti degli esperimenti devono obbedire ai dati che se ne ricavano, oggettivamente, ma possono registrare ciò che si ritiene utile che risulti - il caso del bambino rabbico non denunciato o il protocollo sull’attenuazione di Pouilly-le-Fort - tuttavia, oltre ai problemi delle traduzioni tecniche, i cahier offrono gli elementi sul piano metodologico, corretti per l’individuazione del ruolo di Pasteur nella *querelle* e conseguentemente la collocazione degli altri scienziati coinvolti.

Il metodo di indagine offerto dai cahiers fonda la credibilità, relativa se si vuole, di un procedimento che mira a risposte verificabili.

Gli storici della scienza hanno proprio il compito di verificare con la credibilità delle loro risposte una “verità ricostruttiva” dei fatti di cui si occupano; spesso una storiografia acquisita tende a mitizzare la scoperta scientifica e spesso ciò avviene per rendere comprensibile ciò che per sua natura non lo sarebbe, almeno per gli “esterni” della scienza o del pubblico - oggi, per i mass-media - ma l’informazione rivisitata e rifondata può, tramite loro, adeguarsi al livello culturale che il rinnovamento continuo della scienza sollecita alla cultura individuale e internazionale di base.

Gli storici della scienza, in primis, come ci ricorda M. Baldini¹ devono perciò farsi allievi del sospetto mentre tentano di dipanare le intricate successioni dei fatti cioè delle scoperte, devono sorvegliare quanto successivamente potrà costituirsi repertorio, vario e imprevedibile, per la prosecuzione della scienza.

Il lavoro ricostruttivo degli storici interviene a “smontare” la intuizione creativa, a collocarla in un disegno la cui forma appare e scompare, talvolta gioca su omissioni e oscurità - legate alle prospettive individuali di fondo - ma, in definitiva, ha l’obbligo di allargare il panorama ridefinendo dettagli per elaborare una coscienza culturalmente più ricca, talora anche più vera. Certamente più rispondente alle domande di chi vuole sciogliere qualche dubbio: il sospetto di chi risponde, il dubbio di chi legge.

Quale diritto all’esistenza potranno avere sospetti funzionali e dubbi sistematici? In sé producono scetticismo o agnosticismo, atteggiamenti che la scienza aborre se sono forme di ripiegamento o di rifiuto, se sono aspetti conclusivi di una ricerca: l’ottimismo della ricerca supera il sospetto della scienza - Cartesio, Bacone, Galilei, Newton... come ho già proposto prima.

È a suo modo, comprensibile e forse condivisibile, quanto ci propone P. Medawer, Nobel per la medicina, affermando la “studiata ipocrisia” degli scienziati, una denuncia tanto clamorosa, scandalosa direi, quanto ipocrita: ricorda il noto paralogismo del mentitore “tutti i cretesi sono bugiardi, io sono cretese, dunque sono bugiardo” che invece di risolvere il problema (falso e scorretto) della probità dei criteri si diverte a creare un dubbio logico irrisolvibile, a meno che un non cretese sciogliesse il dilemma ovvero un non scienziato dicesse quanto è vero il discorso scientifico. La verità - denuncia di Medawer è però applicabile sia a Pasteur sia a Koch, quantunque il fatto della scoperta - verità sia diventato indubitabilmente il vaccino anticarbonchioso (che è prova di sé e non dipende da volontà ipocrite).

Pasteur in particolare, ci ha fornito diversi esempi sull’occultamento dei dati; facendo un confronto sistematico tra le fonti della vulgata storiografica e quelle primarie, si è evinto che lo scienziato francese in diverse occasioni ha deliberatamente

¹ M. Baldini, *Gli scienziati ipocriti sinceri : metodologia e storia della scienza*, A. Armando, Roma, 1978; *Problemi e prospettive di storia della scienza*, Città Nuova, Roma, 1986.

sottaciuto il reale processo creativo che lo ha portato all'elaborazione di una teoria scientifica.

Così i fatti parlano se li si costringe a parlare, se si individua ciò che li contraddistingue separandoli da tutto ciò che è cresciuto, anche fanaticamente o feticisticamente, come dice Pasteur, su di loro e forse le priorità individuali possono essere un corollario e non la tesi da dimostrare, pure considerando le regole (scientifiche) o economiche e produttive che le governano, standone fuori.

Dicevo che i materiali a disposizione dello storico della scienza vanno assorbiti e integrati in una prospettiva rinnovata e non posso non riconoscere qui come il lavoro degli studiosi Cadeddu e Geison su Pasteur sia servito ad orientarmi nella ricerca e ad identificare le incertezze e le omissioni, le aporie negli entusiasmi (anche legittimi), le progressioni contraddittorie nella ricerca e anche la casualità della ricerca. La serendipità, oggi è così chiamata, è fenomeno curioso e ricorrente nella scienza; lo scienziato ha in sé la vertigine della ricerca e vuole raggiungere con le sue cognizioni la zona inesplorata della scoperta; la genialità di Pasteur si accosta agli esperimenti collaterali ed autonomi di Roux e trova la via, il passaggio che consente il risultato; ma in quanti modi interviene il caso!

Dalla rilettura di Cadeddu dei cahiers, ricondotti alla loro funzionalità dimostrativa si potevano rivedere dunque imbarazzi, le precarie basi sperimentali, e da qui, l'approssimazione per eccesso della vulgata storiografica e la incompletezza di lettura delle fonti primarie; la scoperta scientifica poteva riprendere la fisionomia che l'aveva contraddistinta e connotarsi concretamente come l'impraticato, fino a quel momento, vaccino anticarbonchioso, come la quintessenza delle omeopatie possibili (e inoculabili); Pasteur credeva che la vita animale potesse essere spiegata come passaggio dall'inorganico ed è scoperta di questi giorni (anche allarmante) la "creazione" di una cellula vivente in laboratorio, come epilogo di un "rovesciamento" sistematico, di una serie ininterrotta di tentativi e di errori cui il genio individuale dà forma e spessore qualitativo.

Il vaccino creato con l'attenuazione operata dall'ossigeno, descritto per la prima volta nell'ottobre 1880, non era sicuramente ancora suffragato da esperimenti decisivi; quando, Pasteur sottoscrisse il protocollo con la Società Agricola di Melun per l'espletamento dell'esperimento di Pouilly-le-Fort, aveva forse già intuito quale fosse la meta ma doveva ancora scegliere il percorso e Roux aveva i risultati dei molti tentativi condotti: Pasteur credette nella sua intuizione, forte dei risultati dei suoi assistenti. Chamberland e Roux fornirono i presupposti a Pasteur per richiedere l'esperimento pubblico ma Pasteur sapeva che più importante e decisivo era il risultato che la sua fama di scienziato, inglobando nell'esperimento la risoluzione del conflitto etico, dell'appartenenza e della paternità, a suo favore; certo è che fu Pasteur a firmare il Protocollo e a difendere, anche contro Koch il "suo" successo; la fretta rischiosa di Pasteur come può essere motivata? È possibile che egli, per i noti e non marginali interessi nazionalistici ed economici, abbia anticipato i tempi? Sarebbe interessante conoscere e approfondire le posizioni di Roux e Chamberland, non solo come assistenti di Pasteur, dopo la sua morte.

Si è già detto, però, che Pasteur non volle chiarire la situazione interna del suo laboratorio neanche quando Koch constatò che il metodo di attenuazione ottenuto nel Protocollo non forniva i risultati visti a Pouilly-le-Fort.

Sembra opportuno richiamare brevemente qui uno degli aspetti che condizionano dall'esterno la scienza e non le consentono di isolarsi dal sociale: la blitzkrieg tra Francia napoleonica e la Germania guglielmina, conclusa a Sedan e con lo strascico vistoso della Comune parigina e delle riparazioni (miliardarie di guerra) aveva determinato un sentimento renvascista che era facilmente riconoscibile a livelli socio-economici-politici ma con palesi riflessi sulla cultura, diretti e trasversali, e la Francia perdente doveva recuperare una credibilità che la strategia politica impediva: il mito nazionalista ha estese influenze ma la scienza non può né deve legittimare una politica. Gli scienziati però vivono quanto la politica provoca, come la società, del resto - esempi frequentissimi e recenti ancora dimostrano quanto la oggettività scientifica sia distante dalle soggettività che detengono, e sono titolo, il potere e perfino l'arte... - e anche Pasteur, restituendo a Bonn la Laurea in medicina, nel 1871 anticipò le stesse "riserve

patriottiche” del custode del suo Istituto nel 1940; ma non è questo l’argomento del presente lavoro.

Oggetto del lavoro è la querelle per l’attribuzione della paternità del vaccino anticarbonchio; già è stato detto come la scoperta sia stata frutto di un esteso e tortuoso programma di ricerca e se va ribadito che Pasteur e Koch dimostrarono sperimentalmente l’eziologia della malattia carbonchiosa, il bacillo dell’antrace, va ugualmente considerato nel ruolo del precursore Davaine, il precursore non lo scopritore; lo scienziato cui attribuire indefettibilmente la scoperta viene accertato dalla vulgata storiografica coi limiti che essa comporta; le fonti, rilette e rivalutate, riferiscono di un comprimariato cronologico che li riguarda entrambi: nel biennio 1876/77 si pubblicarono i testi che ufficializzarono le ricerche, e se si vuole, prima di Koch e poi di Pasteur, ma una “paternità cronologica” non è in grado di dissipare i dubbi e dirimere così la querelle; si deve riconsiderare la questione in termini assai più ampi, chiamando in causa altri scienziati e altri esperimenti; bisogna riaffrontare la ricerca nei periodi precedenti il biennio 1876/77 poi individuare il sostrato culturale e scientifico da cui originerà la scoperta.

Il sostrato culturale non coincide, ovviamente, con la scoperta che possiamo considerare un nuovo “centro” rispetto alla estensione conosciuta, un centro che ricolloca la periferia - certo la scoperta non è la palude di cui parla K. Popper² e periferici ma di discreto interesse, invece appaiono i toni polemici di Koch, talvolta troppo accesi nei confronti di Pasteur e forse ingenerosi - un centro, attorno al quale ruotano le individualità coi personalismi, la difesa degli interessi nazionali ed economici con le accuse di reciproci errori: Koch che accusa Pasteur di adulterare le colture microbiche, per esemplificare.

La diversità cronologica dell’ufficialità giustifica ed introduce la differenza dei mezzi tecnici impiegati (e dei precedenti scientifici) circa la sperimentazione e la

² K. Popper, *Logica della scoperta scientifica*, traduzione di Mario Trincherò, Einaudi, Torino, 1978: “La scienza non poggia su uno strato solido di roccia. L’ardita struttura delle sue teorie si eleva, per così dire, sopra una palude. È come un edificio costruito su palafitte. Le palafitte vengono conficcate dall’alto, giù nella palude: ma non in una base naturale data; e il fatto che desistiamo dai nostri tentativi di conficcare più a fondo le palafitte, non significa che abbiamo trovato un terreno solido”.

scoperta del vaccino; basterà ricordare che Koch poté approfondire questioni e dati come la produzione in vitro di spore trattate a 42°/43° che Pasteur non praticò e alimenta i problemi delle implicazioni dirette e indirette della scoperta, l'uso di tutte le novità che comportava e l'inizio della ricerca del centro venturo, della nuova frontiera dell'indagine (e le nuove periferie più o meno scaltrite e aggressive con la resistenza delle pratiche tradizionali).

La “novità” del vaccino anticarbonchioso nella profilassi veterinaria si autoreferenzia con la sua diffusione in Europa e con la sua concreta efficacia - il vaccino parve allora rimedio indubitabile e sicuro mentre oggi sappiamo che esso può scontrarsi con ceppi di virus resistenti in grado cioè di sopravvivere e perpetuarsi e letali per l'individuo ospitante - e tuttavia la querelle circa l'attribuzione della paternità, endemicamente umana è riducibile tramite la obiettività degli storici, si arricchisce di attori che, sembrano defilati mentre in realtà occupano la prospettiva interpretativa e storica a pieno titolo - ci fu un concorso, ignoto ai protagonisti, di necessità contingenti e di ricerca sperimentale, sotto la spinta delle maggiori richieste di risorse e di prestigio legate ai rispettivi mutamenti istituzionali, così praticamente diversi nel contesto delle controversie nazionali e individuali, tra Koch e Pasteur, occorre dare così giusto risalto ad un attore che intervenne con un contributo determinante alla scoperta del vaccino (e alla sua paternità): J. H. Toussaint.

La “seconda” querelle tra Pasteur e Toussaint pare riconducibile in ambiti meno personalisticamente costruiti, connotata da una coscienza gerarchica dei ruoli - non così insopportabile dell'intelligenza storica - e costruita su un simile e devoto, direi, atteggiamento di passione scientifica. Pasteur è vero, non sa rassegnarsi a riconoscere i meriti altrui: le sue frette e la sua presa di posizione esplicitano la sua personalità impulsiva ma il successo non gli impedisce il riconoscimento della importanza di Toussaint - paradossalmente avvicinandosi a Koch per motivi diversi: Pasteur nutre scambi di esperienza e di comune interesse, Koch, forse, in funzione antipasteuriana soprattutto - Toussaint che, tramite i suoi esperimenti con gli additivi chimici ebbe l'approvazione anche di Chamberland e Roux. Toussaint fu certamente il primo ad aver presentato ufficialmente e in pubblico un metodo d'attenuazione sul colera dei polli, un

vaccino che Pasteur aveva già sperimentato ma non reso disponibile alla comunità scientifica - non erano emerse riserve sul suo metodo col trattamento termico e l'acido fenico, col petrolio.

Ancora una volta il mito viene superato dalla cronologia, pur così importante nel discorso storico (come recepisce Cadeddu) ma essa non basta alla ricostruzione dei fatti e degli eventi e si espande nelle variabili, che prima inerti giacevano nel mito, e ora rivendicano l'estensione e la collocazione a loro consona: la storia (di una querelle) vive dei molti protagonisti, che lo storico accerta dandogli identità.

La manovra depistante di Pasteur (contro Toussaint) sul metodo di attenuazione fu possibile anche per situazioni oggettivamente a lui favorevoli, come la lunga malattia e la morte in giovane età di Toussaint; la deferenza di Toussaint nei confronti di Pasteur, il maestro, nacque non dalla subordinazione accademica come ho già detto prima, ma dalla capacità di vedere le imprecisioni e le incertezze che ancora erano presenti nelle sue sperimentazioni. I rapporti umani e scientifici tra Pasteur e Toussaint sembrano indicare, con la comune passione, una corrente non oppositiva che la diversità di mezzi e di tecniche di laboratorio non ostacola e nemmeno sembra di gran peso la consolidata posizione accademica di Pasteur rispetto a Toussaint che non era neanche membro dell'Accademia delle scienze di Francia.

Lo storico della scienza deve però dichiarare che a Toussaint non fu riconosciuto il merito che acquisì Pasteur, per il grande e qualitativo contributo offerto non solo a Pasteur, ma anche alla scienza e alla creazione di un vaccino anticarbonchio; che a causa dell'assenza di sostegni politici ed economici Toussaint non ebbe ciò che ancora oggi risulta determinante per la ricerca (e come ho già rilevato, anche condizionante) ovvero stanziamento di fondi idonei e riconoscimenti determinanti; che i lavori di Pasteur e di Koch sono, per così dire, collocati sul fondamento di Toussaint (la palafitta di Popper).

La polemica tra Pasteur e la S.V.P. potrebbe essere interpretata come lo sviluppo originato dalle reticenze che Pasteur volle mantenere sui metodi (e mezzi) dei processi di attenuazione del virus del carbonchio; i reciproci rimproveri, su affermazioni nate dalle riserve, per certi versi spiegabili, ma di fatto, concrete riserve - brevetti, produzione, profitti, *grandeur*, fama personale, commercio internazionale - di Pasteur, si scontrano con la certezza di dover esaurire da parte delle S.V.P. il campo di indagine delle ricerche ulteriori; la periferia vuole dal centro la chiarezza che le serve per lo sviluppo di competenza; Pasteur, rappresentante ufficiale della scoperta, secondo la vulgata storiografica d'allora, non sa adattarsi al mutamento e allo spirito di rinnovamento che ha prodotto; è vero che si innestano fatti nuovi, come evidenzia Perroncito, nella scoperta vaccinale ma il teorema fondamentale aveva già avuto una risposta e quindi erano tutti corollari o quasi, gli sviluppi successivi in quel settore; Perroncito stesso interpreta in piena responsabilità il metodo pasteuriano in Italia e le Scuole veterinarie hanno avuto il merito di estendere ulteriormente la ricerca nella concretezza delle applicazioni sul campo, sebbene le resistenze si basassero su validi motivi, almeno all'inizio, come prova la situazione zootecnica nelle campagne dell'Agro romano.

Discussioni e posizioni polemiche fanno parte integrante dei percorsi della ricerca scientifica; le drastiche opposizioni spesso si contrappongono alle esaltazioni miracolistiche; a ben guardare le controversie si nutrono delle caratteristiche delle individualità piuttosto che delle risultanze metodologicamente obiettive e, in questi territori, la finalità scientifica rischia di diventare puramente strumentale e quindi autorizzare una forma di autodiscredito. Quando la comunità scientifica omologa una scoperta deve anche riconoscere la priorità dello scopritore anche se sembra ormai tramontato il mito dell'individualità e il riconoscimento diventa più simbolico che reale; non si fa fatica ad ammettere che oggi le componenti, tutte le componenti, sono integrate nel lavoro di equipe, nel gruppo e nei sottogruppi (anche se i premi Nobel per lo più vengono assegnati alla persona). La controversia è insomma l'equivalente della dialettica nel discorso filosofico o lo dovrebbe diventare quando la scienza ha come meta il "progresso" del sapere umano. Nei fatti la scoperta scientifica abbisogna di un

fondamento, che spesso è la convinzione personale, ma che diventa poi la tappa di una strada tanto lunga quanto imprevedibilmente stabile: Pasteur viene dalla Chimica e dalla Fisica, Toussaint dalla scienza biologica e veterinaria, Koch dalla medicina ... ma ognuno ha lavorato con staff complessi e tecnicamente specialistici (e non basterà ricordare il ruolo dei miglioramenti del microscopio).

Mi sento di ribadire, dunque, che se la scienza non può che essere ottimistica, la realtà concreta dei fatti non coincide col suo ottimismo; occorrono confini e limiti, anche questi operanti nel contesto, di cui parlavo prima, confini etici, per esempio e non per caso, non dettabili dalla scienza della logica della scoperta; aprioristiche o rivelate, non mi riferisco ad un'etica religiosa o ad un'etica statalizzata, ma i modelli interpretativi della scienza, (e del suo ruolo) vanno costantemente rivisitati per impedire che si dogmatizzino o che diventino altri miti, il concetto sistematico e progressivo di giustizia - individuale, sociale, economica... - connessa ai bisogni primari dell'essere umano e dell'ambiente, potrebbe fornire le indicazioni necessarie (e non potrà arrogarsi il diritto di fondamento quella scaturita dal Mercato).

Troviamo un ragionato rapporto tra mercato e laboratorio - essi però non possono essere assunti come modelli interpretativi della scienza. Le regole che sottendono il mercato ed il laboratorio non possono estendersi e prevaricare i rapporti nella società civile.

Un vaccino non può essere cambiato in principi di scelta etica; è certo, però, che la sua validità ha riscontri che esulano dalla sua formula o dal suo metodo di realizzazione; chiedere ad uno scienziato scopritore di fermarsi sembra una limitazione insopportabile per lo scienziato stesso ma lo stop non è più incomprensibile se si esce dal laboratorio; ed ecco riapparire la dialettica (e la controversia) ancora meno definibile nei suoi termini o nelle sue antitesi.

APPENDICE

(Tutti i testi presenti in Appendice sono traduzioni originali dell'autore Franco Farris).

La vaccinazione carbonchiosa. Risposta ad una memoria di M. Koch

L. Pasteur, "La vaccination charbonneuse. Réponse a un Mémoire de M. Koch". *Revue scientifique*, n. 20 gennaio 1883, 3^a serie, V, Baillière & C., Paris 1883.

LA VACCINATION CHARBONNEUSE
 RÉPONSE A UN MÉMOIRE DE M. KOCH (1)

AVANT-PROPOS

Peu de temps après le Congrès médical international de Londres, où j'avais fait connaître l'atténuation des virus ², parut à Berlin le premier volume du recueil des travaux de l'*Office sanitaire impérial allemand* (3). Non seulement cette découverte de l'atténuation, mais toutes mes recherches antérieures sur les microbes des maladies étaient attaquées avec une étrange vivacité par le docteur Koch et deux de ses élèves (4). J'attendis pour répondre qu'une occasion favorable se présentât; elle me fut offerte au mois de septembre 1882. Je me rendis à cette époque à Genève, au Congrès international d'hygiène, avec l'espoir de rencontrer aux séances le docteur Koch. Mon attente ne fut pas trompée. En sa présence, et incidemment, je réfutai ses critiques (5); mais il déclina toute discussion, alléguant qu'il répliquerait par la voie de la presse. Il mit trois mois à publier une petite brochure intitulée: *Sur la vaccination charbonneuse; réponse au discours tenu à Genève par Pasteur*, par le docteur R. Koch, conseiller intime du gouvernement. Berlin, 1882 (6).

Je l'ai entre les mains et je vais dire ce que j'en pense.

1. *Revue scientifique*, n° du 29 janvier 1883, 3^e sér., V, p. 74-84; et *Paris*, 1883, Baillière et C^{ie}, brochure de 32 p. in-8°.

2. *Ibid.*, p. 370-378 du présent volume: Vaccination in relation to chicken-cholera and splenic fever [Des virus-vaccins].

3. *Mittheilungen aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte*, herausgegeben von Dr. Struck. Erster Band. Berlin, 1881, in-4° (14 Taf.)

4. GAFFKY (G.). Experimentell erzeugte Septicämie mit Rücksicht auf progressive Virulenz und accommodative Züchtung. *Ibid.*, p. 80-123.

LAEFFLER (Fr.). Zur Immunitätsfrage. *Ibid.*, p. 134-187.

5. *Ibid.*, p. 391-411 du présent volume: De l'atténuation des virus. Communication faite le 5 septembre 1882, au quatrième Congrès international d'hygiène et de démographie, tenu à Genève du 4 au 9 septembre 1882.

6. KOCH (R.). Ueber die Milzbrandimpfung. Eine Entgegnung auf den von Pasteur in Genf gehaltenen Vortrag. Kassel und Berlin, 1882, in-8°. (Notes de l'Édition.)

LA VACCINATION CHARBONNEUSE.***Réponse a un mémoire de M. Koch*¹.****Prefazione**

Poco tempo dopo il Congresso Medico Internazionale di Londra, dove avevo fatto conoscere l'attenuazione del virus², uscì a Berlino il primo volume della *Raccolta dei Lavori dell'Ufficio Sanitario Imperiale Tedesco*³.

Non solo questa scoperta dell'attenuazione, ma tutte le mie ricerche precedenti sui microbi delle malattie venivano criticate con una strana vivacità dal dott. Koch e da due dei suoi allievi⁴. Per rispondere ho aspettato che si presentasse un'occasione formale; essa mi fu offerta nel settembre 1882. Io a quei tempi mi recai a Ginevra, al Congresso Internazionale d'Igiene, con la speranza di incontrare alle riunioni il dott. Koch. La mia attesa non fu delusa. Alla sua presenza e per inciso io rifiutai⁵ le sue critiche; ma lui rifiutò ogni discussione, aggiungendo che avrebbe risposto attraverso la stampa. Ci mise tre mesi per pubblicare una piccola brossura intitolata:

“*Sulla vaccinazione carbonchiosa*”; risposta al discorso tenuto a Ginevra da Pasteur, del dott. Koch, Consigliere Privato del Governo, Berlino, 1882⁶.

Io l'ho tra le mie mani e sto per dire ciò che ne penso.

¹ *Revue scientifique*, n. 20 gennaio 1883, 3 serie, V, pp. 74-84 ; Parigi 1883, Baillièrè & C., rivista di 32 pp.

² Vedere pp. 370 – 378 del presente volume: Vaccination in relation to chicken-colera and splenic fever [De virus vaccins

³ *Mittheilungen aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte*, pubblicato da Dr. Struck. Primo volume. Berlino, 1881, in-4° (14. Tav.).

⁴ GAFFKY (G.). Experimentell erzeugte Septicämie mit Rücksicht auf progressive Virulent und accomodative Züchtung. *Ibid*, pp. 80-133.

LOEFFLER (Fr). Zur Immunitätsfrage. *Ibid*. pp. 134-187.

⁵ Vedere pp. 391-411 del presente volume : De l'attenuation de virus, Comunicazione fatta il 5 Settembre 1882, al 4° Congresso Internazionale di Igiene e Demografia, tenuto a Ginevra dal 4 al 9 settembre 1882.

⁶ KOCH (R). Ueber die Milzbrandimpfung Eine Entgegnung auf den von Pasteur in Genf gehaltenen Vortrag. *Kassel e Berlino*, 1882, in-8°. (Nota dell'Edizione).

A Monsieur Koch,

CONSEILLER INTIME DU GOUVERNEMENT, A BERLIN.

Paris, ce 25 décembre 1882.

Monsieur,

En 1881, vous avez attaqué mes travaux, à la hâte et à la légère, dans le premier volume du recueil de l'*Office sanitaire impérial allemand* (1). A Genève, le 5 septembre 1882, j'ai réfuté en passant vos erreurs. Il est fâcheux que vous vous soyez alors refusé à une discussion publique. Si différentes que soient les conditions d'un débat qui ne peut plus s'engager face à face et en présence de juges compétents, je les accepte cependant.

Je n'ai apporté, dites-vous, au Congrès de Genève, aucune nouveauté scientifique. Vraiment, monsieur! Une méthode générale d'atténuation des virus par une simple exposition à l'action de l'oxygène de l'air, la connaissance de nouveaux microbes, la recherche des conditions de leur atténuation, variables selon leurs propriétés respectives, tout cela n'a rien qui vous paraisse nouveau! Il est vrai que, dans le recueil allemand que je citais tout à l'heure, vous avez laissé croire que l'atténuation des virus était une fable, l'effet probable de quelque adulation de mes cultures ou du dépôt d'un germe étranger sur l'aiguille servant à la vaccination.

Quelque habitué que je puisse être aux contradictions de toute sorte, j'avoue que j'ai été déconcerté en lisant dans votre brochure que :

« Dans l'étude d'une maladie, je ne recherche pas les microbes, que je ne m'inquiète pas de savoir où ils sont, et que je laisse de côté, dans chaque cas particulier, la démonstration du caractère parasitaire. »

Il faut vraiment avoir ces lignes sous les yeux pour se persuader qu'elles ont été écrites.

« C'est ainsi, continuez-vous avec assurance, que Pasteur ne dit pas s'il a, dans la maladie désignée par lui comme nouvelle maladie de la rage, exploré les organes de l'enfant qui a succombé à la rage et qui lui a servi de point de départ pour des expériences d'inoculation et, avant tout, s'il a recherché microscopiquement dans les glandes sublinguales la présence du microbe spécifique. »

Je retrouve ici, monsieur, un nouvel exemple du procédé de discus-

1. Koch (R.). Zur Aetiologie des Milzbrandes. *Mittheilungen aus dem kais. Gesundheitsamte*. I. 1881, p. 49-79. (Note de l'édition.)

Al Signor Koch,
Consigliere Privato del Governo.

Parigi, 25 dicembre 1882

Signore,

nel 1881, voi avete attaccato il mio lavoro, affrettatamente e alla leggera, nel 1° volume della Raccolta dell'Ufficio Sanitario Imperiale Tedesco⁷. A Ginevra, il 5 settembre 1882, io ho confutato i vostri errori. E' spiacevole che allora voi abbiate rifiutato una discussione pubblica.

Per diverse che siano le condizioni di un dibattito che non può più svolgersi faccia a faccia e in presenza di giudici competenti, io le accetto ugualmente. Io non ho apportato, voi dite, al Congresso di Ginevra, alcuna novità scientifica. Veramente Signore!

Un metodo generale d'attenuazione dei virus attraverso una semplice esposizione all'azione dell'ossigeno dell'aria, la conoscenza di nuovi microbi, la ricerca delle condizioni della loro attenuazione, variabili secondo le loro rispettive proprietà, tutto ciò non ha niente che vi sembri nuovo. E' vero che nella raccolta tedesca che io citavo voi avete lasciato credere che l'attenuazione dei virus fosse una favola, effetto probabile di qualche adulterazione delle mie colture o del deposito di un germe estraneo sull'ago che serve alla vaccinazione. Per quanto abituato io possa essere alle contraddizioni di ogni tipo, riconosco che sono rimasto sconcertato leggendo nella vostra brossura che:

“Nello studio della malattia, io non ricerco i microbi, perché non mi interessa sapere dove sono, e lascio da parte, in ogni caso particolare, la dimostrazione del carattere parassitario”. Bisogna veramente avere sotto gli occhi queste righe per persuadersi che esse sono state scritte.

“E' così, voi continuate con sicurezza, che Pasteur non dice se ha, nella malattia da lui designata come nuova malattia della rabbia, esplorato gli organi del bambino che è morto per la rabbia e che gli è servito come punto di partenza per alcune esperienze di inoculazione e prima di tutto, se ha cercato microscopicamente nelle ghiandole sublinguali la presenza del microbo specifico”.

Io trovo qui, signore, un nuovo esempio del procedimento di discussione

⁷ KOCH (R). Zur Aetiologie des Milzbrandes. Mittheilungen aus dem kaiserl. Gesundheitsamte, I, 1881, pp. 49-79. (Nota dell'Edizione).

sion qui vous a déjà servi en 1881 ; vous me prêtez des erreurs que je n'ai pas commises ; vous les combattez et vous en triomphez bruyamment. Où donc avez-vous lu un travail de moi relatif à une « nouvelle maladie de la rage » ? Sans doute dans quelque récit de seconde main.

Non, monsieur, je n'ai jamais affirmé avoir trouvé une nouvelle maladie de la rage. J'ai dit et je répète que j'ai trouvé une maladie nouvelle¹⁾ qui a été obtenue pour la première fois par la salive d'un enfant mort de la rage, que cette salive, ou plutôt le mucus buccal inoculé aux lapins, les a fait périr rapidement par la présence d'un microbe que personne n'avait signalé avant nous, car j'écrivis en mon nom et au nom de mes trois collaborateurs, MM. Chamberland, Roux et Thuillier. Cet organisme microscopique, je l'ai décrit ; j'ai indiqué les lésions qu'il provoque ; j'ai démontré que ce microbe, quoique pathogène pour les chiens et les lapins et quoique présent dans le mucus buccal des personnes qui meurent de la rage, n'a pourtant aucune relation quelconque avec l'étiologie de cette dernière maladie ; qu'enfin on le rencontre habituellement dans la bouche d'enfants morts de maladies communes et également dans la salive de personnes adultes en pleine santé. Voilà ce que j'ai dit, et ce qu'il était facile de vous rappeler. Vous continuez imperturbablement :

« Pasteur, quand il essaya de transmettre la rage du cadavre de cet enfant aux animaux, employa, non pas le tissu même de la glande sublinguale, mais la salive ; or on sait que celle-ci contient un nombre incalculable de diverses bactéries, notamment, comme Vulpian et Sternberg l'ont montré, des bactéries pathogènes, même chez l'homme tout à fait sain. (Vulpian, *Bulletin de l'Académie de médecine*, 29 mars 1881 ; et Sternberg, *National Board of Health Bulletin*, 30 avril 1881 . »

Vous ignorez donc, monsieur, que la salive rabique était la seule substance dans laquelle on eût constaté la présence du virus rabique et qu'aujourd'hui encore, on conteste la présence de ce virus dans les glandes : ce n'est pas là toutefois ce que je veux relever. Je veux montrer simplement que vous possédez l'art de mêler les choses et de confondre les dates, que MM. Vulpian et Sternberg sont venus non pas devancer, mais confirmer la constatation de l'existence d'un microbe pathogène dans la salive de personnes en pleine santé. Il suffit de se reporter aux séances des 22 et 29 mars 1881 de l'Académie de médecine. Voici d'ailleurs comment s'est exprimé M. Vulpian, le 29 mars 1881 : « Je regrette de n'avoir pas été présent à l'Académie, lorsque

1. Voir, p. 359-366 du présent volume : Sur une maladie nouvelle provoquée par la salive d'un enfant mort de la rage. (*Note de l'Édition.*)

che vi è già servito nel 1881, voi mi attribuite degli errori che non ho commesso; voi li combattete e ne trionfate clamorosamente. Dunque, dove avete letto un mio lavoro relativo a una “nuova malattia della rabbia”? Senza dubbio in qualche racconto di seconda mano.

No, signore, io non ho mai affermato di aver trovato una nuova malattia⁸ della rabbia. Ho detto e ripeto che ho trovato una nuova malattia che è stata ottenuta per la prima volta dalla saliva di un bambino morto di rabbia, che questa saliva, o meglio il muco della bocca inoculato ai conigli, gli ha fatti morire rapidamente per la presenza di un microbo che nessuno aveva segnalato prima di noi, perché io scrivo a nome mio e dei miei tre collaboratori, i signori Chamberland, Roux e Thuillier. Ho descritto questo organismo microscopico; ho indicato le lesioni che provoca; ho dimostrato che questo microbo, sebbene patogeno per i cani ed i conigli e sebbene presente nel muco della bocca delle persone che muoiono di rabbia, non ha tuttavia alcuna relazione comune con l’eziologia di quest’ultima malattia; infine ho dimostrato che lo si trova nella bocca dei bambini morti di malattie comuni e ugualmente nella saliva di persone adulte in piena salute. Ecco quello che ho detto, e che era facile ricordarvi.

Voi continuate imperterrito:

“Pasteur, quando provò a trasmettere la rabbia dal cadavere di questo bambino agli animali, impiegò non il tessuto stesso della ghiandola sublinguale, ma la saliva; ora si sa che quella contiene un numero incalcolabile di batteri differenti, notamente, come Vulpian e Steruberg hanno mostrato batteri patogeni, anche nell’uomo sano. (Vulpian, *Bollettino dell’Accademia di Medicina*, 29 marzo 1881; e Steruberg, *National Board of Health Bulletin*, 30 aprile 1881)”.

Voi quindi ignorate, signore, che la saliva rabbica era la sola sostanza nella quale si fosse constatata la presenza del virus rabbico e che ancora oggi si contesta la presenza di questo virus nelle ghiandole; non è questo tuttavia che voglio rilevare. Io voglio mostrare semplicemente che voi possedete l’arte di mescolare le cose e di confondere i dati, e che i signori Vulpian e Steruberg hanno constatato e confermato l’esistenza di un microbo patogeno nella saliva di persone in perfetta salute. E’ sufficiente rapportarsi alle sedute del 22 e 29 marzo 1881, dell’Accademia di Medicina. Ecco d’altronde come si è espresso Vulpian il 29 marzo 1881:

“Mi dispiace di non essere stato presente all’Accademia, quando

⁸ Vedere pp. 559-556 del presente volume: Sur une maladie nouvelle provoquée par la salive d'un enfant mort de la rage. (*Nota dell’Edizione*).

M. Parrot a lu la Lettre de M. Pasteur, insérée dans le dernier *Bulletin* (1). J'aurais informé l'Académie que j'avais provoqué la mort assez rapide d'un lapin, en lui faisant subir une injection sous-cutanée de salive normale provenant d'adultes sains... Le sang du premier lapin et celui du second, examinés quelques heures après la mort, contenaient de nombreux microbes ; plusieurs d'entre eux, dans chaque préparation, offraient les caractères de ceux qui ont été trouvés par M. Pasteur dans le sang de lapins morts à la suite de l'inoculation de la salive provenant d'enfants morts d'hydrophobie rabique ou d'enfants morts de broncho-pneumonie. M. Pasteur avait eu la complaisance de me montrer ces microbes, et j'ai pu ainsi les reconnaître facilement (2). Ai-je besoin d'ajouter que Sternberg, monsieur, d'après votre texte même, n'arrive que le troisième dans la constatation de l'existence de ce microbe ?

Préoccupé, comme vous l'êtes visiblement, d'enlever une part de nouveauté à la découverte du nouveau microbe de la salive et de la maladie qu'il détermine, vous affirmez gratuitement que cette maladie est identique à la septicémie des lapins de Davaine, ce qui est absolument inexact. Comme vous avez la prudence de ne donner aucune preuve de votre assertion, je n'ai pas à m'y arrêter.

Votre méthode générale d'argumentation se retrouve dans la manière dont vous présentez ce que j'ai dit d'un autre microbe également nouveau, celui que nous avons rencontré dans la matière écumeuse sortant des naseaux d'un cheval mort de l'affection appelée fièvre typhoïde du cheval.

Pourquoi me faites-vous dire qu'à Genève j'ai parlé de la découverte du microbe même de la fièvre typhoïde des chevaux ? Tout au contraire, j'avais fait observer expressément que je laissais de côté la question de savoir si notre microbe, malgré son origine, avait une part quelconque dans la cause de cette affection. Vous savez très bien que ma Communication à Genève avait pour objet principal de donner des exemples d'atténuation de virus par l'influence de l'oxygène de l'air, et que pour l'un de ces exemples j'ai pris le microbe dont je viens d'indiquer l'origine. Vous affirmez, en outre, sans la moindre preuve, que ce quatrième microbe est encore identique au microbe pathogène

1. Lettre dans laquelle j'annonçais à l'Académie la présence, dans la salive d'enfants morts de maladies communes et dans celle d'une personne adulte, en pleine santé, du microbe nouveau que j'avais découvert dans la salive d'enfants rabiques, et où je conclusais que la maladie produite par ce microbe n'avait aucune relation avec la rage. (*Voir*, p. 570-571 du présent volume : Lettre au Dr Parrot, le 22 mars 1881.)

2. VULPIAN, Inoculation de salive. (Note lue par le Secrétaire perpétuel.) *Bulletin de l'Académie de médecine*, séance du 29 mars 1881, 2^e sér., X, p. 334-335. (Note de l'Édition.)

il signor Parrot ha letto la lettera del Signor Pasteur, inserita nell'ultimo Bollettino⁹. Avrei informato l'Accademia di aver provocato la morte abbastanza rapida di un coniglio, facendogli subire un'iniezione sotto cutanea di saliva normale proveniente da adulti sani... Il sangue del primo coniglio e quello del secondo, esaminati qualche ora dopo la morte, contenevano numerosi microbi; parecchi di essi, in ogni preparazione, offrivano i caratteri di quelli morti in seguito all'inoculazione della saliva proveniente da bambini morti d'idrofobia rabbica o di bambini morti di broncopolmonite.

Il signor Pasteur aveva avuto la cortesia di mostrarmi questi microbi, e io ho così potuto riconoscerli facilmente¹⁰.

Ho bisogno d'aggiungere, signore, che Steruberg, secondo il vostro stesso testo, è il terzo a constatare l'esistenza di questo microbo?

Preoccupato, come lo siete visibilmente, di levare una parte di novità alla scoperta del nuovo microbo della saliva e della malattia che esso determina, voi affermate gratuitamente che questa malattia è identica alla setticemia dei conigli di Davaine e ciò è assolutamente inesatto. Come voi avete la prudenza di non dare alcuna prova della vostra asserzione, io ho il dovere di non fermarmi. Il vostro modo generale di argomentare lo si ritrova nel modo in cui voi presentate ciò che io ho detto di un altro microbo ugualmente nuovo, quello che abbiamo incontrato nella sostanza schiumosa che usciva dalle narici di un cavallo morto di un'infezione chiamata febbre tifoidea del cavallo. Perché mi fate dire che a Ginevra ho parlato della scoperta del microbo stesso della febbre tifoide dei cavalli? Al contrario, io avevo fatto osservare espressamente che lasciavo da parte la questione di sapere se il nostro microbo, malgrado la sua origine, avesse una qualche parte nel causare quest'infezione. Voi sapete molto bene che la mia comunicazione fatta a Ginevra aveva come oggetto principale quello di portare degli esempi dell'attenuazione dei virus per l'influsso dell'ossigeno dell'aria, e che per uno di questi esempi ho prelevato il microbo di cui ho appena indicato l'origine. Voi affermate, inoltre, senza la minima prova, che questo quarto microbo è ancora identico al microbo patogeno

⁹ Lettera nella quale annunciavo all'Accademia la presenza, nella saliva dei bambini morti di malattie comuni e in quella di una persona adulta, in piena salute, un nuovo microbo che avevo scoperto nella saliva di bambini rabbici, e dove concludevo che la malattia prodotta da questo microbo non aveva alcuna relazione con la rabbia. (vedere pp. 570-571 del presente volume : Lettre au Dr Parrot , 22 mars 1881).

¹⁰ VULPIAN. Inoculation de salive. (Note lue par le Secretaire perpétuel). Bulletin de l'Academie de medecine, seance du 29 mars 1881, 2° serie, X, pp. 394-395. (Nota dell'Edizione).

de la salive. C'est une nouvelle erreur de votre part. Ces deux microbes diffèrent entre eux physiologiquement, autant qu'il est possible. Le jour où vous voudrez être édifié sur ce point et sur tous les points qui précèdent, je serai à votre disposition devant un congrès ou devant une commission dont vous pourrez même désigner les membres.

Si vous acceptez ma proposition, vous ne maintiendrez peut-être pas le ton d'assurance que reflètent les termes que j'extrais de votre brochure même :

« Tout cela fut négligé (il s'agit du quatrième microbe précédent) et un hasard malin voulut que, ici encore, on trouvât le fatal microbe en 8 qui tue les lapins en vingt-quatre heures environ. Qu'il s'agisse encore ici de la même septicémie du lapin que déjà Davaine avait décrite et qui est identique à la maladie nouvelle (de la rage) de Pasteur, c'est ce qui ne saurait faire l'ombre d'un doute pour quiconque se connaît en inoculation sur les animaux..... Même en admettant que l'inoculation du mucus du cheval provoque chez le lapin une variété non encore observée d'infection expérimentale, je considérerais cette découverte comme d'ordre tellement secondaire que je ne la jugerais pas devoir être communiquée à un congrès international comme une chose importante. »

Ce beau dédain, monsieur, pour ces pauvres microbes en forme de 8 fait sans doute partie de votre méthode d'exploration des maladies qui offre avec la mienne, dites-vous, une différence radicale. Il est regrettable qu'elle vous porte à laisser de côté ce que les autres estiment digne des plus sérieuses études, et permettez-moi de penser que, avec plus d'attention pour les petites choses, vous auriez peut-être mieux suivi les détails de ma première Note du 28 février 1881⁽¹⁾ au sujet de l'atténuation du virus charbonneux; vous vous seriez en outre épargné cette erreur de croire qu'à 43° le *bacillus anthracis* donne des spores, et qu'en conséquence le principe même de la méthode de l'atténuation de ce bacille est controuvé.

Vous revenez, monsieur, sur l'expérience de l'inoculation du charbon aux poules par le seul fait d'un refroidissement des sujets⁽²⁾. Cette expérience mérite bien, en effet, toute votre attention; car elle a été jugée jusqu'à présent comme l'une des expériences remarquables de la physiologie. En 1881, dans le recueil de l'*Office sanitaire alle-*

1. *Ibid.*, p. 332-338 du présent volume: De l'atténuation des virus et de leur retour à la virulence.

2. *Ibid.*, à ce sujet, les Communications p. 210-222 du présent volume. (*Notes de l'Édition*.)

della saliva. E' un vostro nuovo errore. Questi due microbi sono differenti fisiologicamente, per quanto è possibile. Il giorno in cui voi vorrete saperne su questo punto e su tutti i punti che precedono, io sarò a vostra disposizione davanti ad un congresso o davanti ad una commissione di cui voi potrete anche designare i membri. Se accettate la mia tesi, forse non manterrete più il tono di sicurezza che riflettono i termini che prendo dal vostro stesso articolo:

“... Tutto ciò fu trascurato (si tratta del quarto microbo precedente) e una cattiva sorte volle che si trovasse il microbo fatale a forma di otto che uccide i conigli in ventiquattro ore circa. Che si tratti ancora della stessa setticemia del coniglio che già Davaine aveva descritto e che è identica alla nuova malattia (della rabbia) di Pasteur, e ciò che non porterebbe alcun dubbio per chiunque conosca l'inoculazione sugli animali. Anche ammettendo che l'inoculazione del muco del cavallo provochi nel coniglio una varietà non ancora osservata d'infezione sperimentale, io considererei questa scoperta di ordine così secondario da non giudicarla idonea ad essere comunicata ad un congresso internazionale come una cosa importante”.

Questo gran disprezzo, signore, per questi poveri microbi a forma di otto fa parte, senza dubbio, del vostro metodo di esplorazione delle malattie che offre rispetto al mio, voi dite, una radicale differenza. E' spiacevole che esso vi porti a lasciare da parte ciò che gli altri ritengono degno degli studi più approfonditi e permettetemi di pensare che, con un po' più d'attenzione per le piccole cose, voi forse avreste seguito meglio i dettagli della mia prima Nota del 28 febbraio 1881¹¹, avente per soggetto l'attenuazione del virus carbonchioso; voi vi sareste inoltre risparmiato l'errore di credere che a 43°, il bacillo del carbonchio produce delle spore, e che di conseguenza il principio stesso del metodo dell'attenuazione di questo bacillo è inventato di sana pianta.

Voi ritornate, signore, sull'esperienza dell'inoculazione del carbonchio ai polli attraverso il solo fatto di un raffreddamento dei soggetti¹². In effetti questa esperienza merita tutta la vostra attenzione; perché essa è stata giudicata fino ad oggi come una delle esperienze importanti della fisiologia. Nel 1881, nella *Raccolta dell'Ufficio Sanitario Tedesco*¹³,

¹¹ Vedere pp. 332-338 del presente volume: *De l'attenuation des virus et de leur retour à la virulence*.

¹² Vedere, a questo proposito, le Comunicazioni pp. 210-222 del presente volume (*Note dell'Edizione*).

¹³ KOCH (R). Zur Aetiologie des Milzbrandes. Gesundheitsamte, I, 1881, pp. 49-79. (*Nota dell'Edizione*).

mand⁽¹⁾, vous avez douté de son exactitude. Plus réservé aujourd'hui, vous l'acceptez comme vraie. Je vous sais gré de ce nouveau changement d'opinion. Toutefois, vous n'acceptez pas l'interprétation que j'ai donnée de ses résultats. Le moyen de maintenir les ailes des poules et de fixer celles-ci sur une planchette n'a pas votre approbation ; vous concluez, ce qui est peu logique, de ce qui se passerait chez certains oiseaux, aux poules elles-mêmes ; enfin, vous prétendez encore que, dans les conditions normales, les poules prennent le charbon dans la proportion de 33 pour 100.

Les poules allemandes y mettent peut-être plus de complaisance que les poules françaises. Quant à moi, je n'ai jamais pu donner le charbon à des poules non refroidies, quelles soient ou non fixées sur des planchettes.

Comme les poules refroidies prennent le charbon et que, au moment où elles sont déjà envahies par le *bacillus anthracis*, il suffit de les réchauffer pour que le *bacillus* disparaisse, en même temps que les poules reprennent peu à peu leur santé, je considère que ce sont là des preuves suffisantes pour conclure à un simple effet de température.

Il serait à désirer même que tous les faits physiologiques fussent établis sur des preuves aussi solides. Il serait à désirer surtout que vous eussiez de votre interprétation, à vous, un appui expérimental aussi sérieux. Mais vous vous contentez d'une interprétation toute de fantaisie en déclarant que vous avez jugé inutile de contrôler les faits.

L'histoire des études anciennes et récentes relatives à l'affection charbonneuse, à son étiologie, à l'application de la vaccination nouvelle des animaux, toutes questions qui paraissent vous intéresser plus particulièrement, va mettre plus encore en évidence les faiblesses de votre polémique.

Votre premier travail porte sur le *Charbon* ou *Milzbrand*⁽²⁾ ; il a été publié, ainsi que vous le rappelez vous-même, en 1876. Voici comment j'en ai parlé, le 30 avril 1877, devant l'Académie des sciences :

« Dans un Mémoire remarquable, le docteur Koch a constaté que les petits corps filiformes découverts par M. Davaine peuvent passer à l'état de corpuscules brillants après s'être reproduits par scission, puis se résorber..... » Et plus bas, j'ajoutais : « On doit penser que ces corpuscules peuvent survivre d'une année à l'autre sans

1. Koch (R.). Zur Aetiologie des Milzbrandes. *Mittheilungen aus dem kaisert. Gesundheitsamte*, I, 1883, p. 49-79.

2. Koch (R.). Untersuchungen über Bakterien. V. Die Aetiologie der Milzbrandkrankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des *Bacillus anthracis* (1876). *Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, II, 1877, p. 277-310. (Notes de l'Édition.)

avete dubitato della sua esattezza. Voi oggi l'accettate come vera. Io vi sono grato di questo nuovo cambiamento d'opinione. Tuttavia, non accettate l'interpretazione che ho dato dei risultati. Il modo di tenere le ali dei polli e di fissarle su una tavoletta non ha la vostra approvazione; voi concludete, poco logicamente, su quello che succederebbe a certi uccelli, ai polli stessi; infine, voi pretendete ancora che in condizioni normali i polli, prendono il carbonchio nella proporzione del 33%.

I polli tedeschi forse ci mettono più diletto di quelli francesi. Quanto a me, io non ho mai potuto procurare il carbonchio a dei polli non raffreddati, sia che fossero o no fissati su delle tavolette. Quando i polli raffreddati prendono il carbonchio, al momento in cui sono già invasi dal bacillo del carbonchio è sufficiente riscaldarli affinché il bacillo scompaia, infatti, i polli riacquistano a poco a poco la loro salute, io credo che là ci siano delle prove sufficienti per concludere che sia necessario un semplice effetto di temperatura. Sarebbe anche da desiderare che tutti i fatti fisiologici fossero stabiliti su delle prove altrettanto solide. Sarebbe soprattutto da desiderare che voi abbiate della vostra interpretazione una prova sperimentale altrettanto seria. Ma vi accontentate di una interpretazione fantasiosa dichiarando che voi avete giudicato inutile controllare i fatti. La storia degli studi vecchi e recenti relativi all'infezione carbonchiosa, alla sua eziologia, all'applicazione della nuova vaccinazione degli animali, tutte questioni che sembrano interessarvi più particolarmente, mettono ancor più in evidenza le debolezze della vostra polemica. Il vostro primo lavoro¹⁴ che riguarda il carbonchio o milzbrand, è stato pubblicato, come voi stesso ricordate, nel 1876. Ecco come ne ho parlato, il 30 aprile 1877, davanti all'Accademia delle Scienze:

“In una dissertazione notevole, il Dottor Koch ha constatato che i piccoli corpi filiformi scoperti dal signor Davaine possono passare allo stato di corpuscoli brillanti dopo essersi riprodotti per scissione, poi riassorbirsi...”.

E più sotto, aggiungevo: “Bisogna pensare che questi corpuscoli possono sopravvivere da un anno all'altro senza

¹⁴KOCH (R). Untersuchungen über Bakterien. V. Die Aetiologie der Milzbrandkrankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus anthracis (1876). Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen, II, 1877, pp. 277-310. (Nota dell'Edizione).

ŒUVRES DE PASTEUR

périr, prêts à propager le mal; c'est l'opinion du docteur Koch (1). »

Vous voyez, monsieur, que, l'un des premiers, j'ai reconnu le mérite de votre travail sur les spores du *bacillus anthracis* et l'utilité de la connaissance de ces spores pour l'étiologie du charbon. Toutefois, si vous voulez bien vous reporter au premier volume de mes *Études sur la maladie des vers à soie*, vous y verrez, pages 168, 228 et 256 (2), que la priorité de la découverte de la formation des spores dans un bacillus pathogène m'appartient, que j'ai décrit et figuré ce bacillus, que j'ai indiqué la formation des spores ainsi que la résolution de la matière environnante des filaments, que j'ai enfin démontré que ces spores ou kystes pouvaient se régénérer plusieurs années après leur formation.

Pourquoi, monsieur, avez-vous caché tout cela aux lecteurs de votre premier Mémoire? Direz-vous que vous ignoriez l'existence de mon Ouvrage sur la maladie des vers à soie, qui a paru en 1869-70? Votre assertion serait sans portée; car, en fait de science, nul n'est censé ignorer une découverte; mais depuis 1877, que d'occasions n'avez-vous pas eues de revenir sur ces faits! Vous vous êtes obstiné à n'en point parler, afin de ne pas avoir à reconnaître que votre étude sur le bacille du charbon devait être considérée, malgré son mérite propre, comme une application nouvelle de principes antérieurs que j'avais établis.

En résumé, ce n'est pas vous, monsieur, qui avez trouvé le mode de génération des bacilles et vibrions par spores; ce n'est pas vous qui avez signalé leur curieux mode de formation; ce n'est pas vous qui avez reconnu leur conservation à l'état de poussière et la longue durée de leur vitalité. La précision avec laquelle j'ai décrit et figuré la formation de ces kystes, corpuscules-germes, spores, est telle que vous auriez pu vous borner à un décalque de la planche qui la représente à la page 228 de mon Ouvrage (3), pour l'introduire dans votre Mémoire de 1876, et la faire servir à ce que vous avez dit du *bacillus anthracis*.

L'opinion que les spores du bacille du charbon peuvent propager le mal charbonneux d'une année à l'autre, de même que les spores du bacille de la flacherie des vers à soie peuvent produire cette maladie les années suivantes, suffirait-elle à nous donner l'étiologie complète et vraie du charbon? Personne ne saurait le soutenir. La connaissance de cette étiologie ne date que de la découverte du rôle des vers de terre.

1. Voir, p. 164-171 du présent volume : Étude sur la maladie charbonneuse.

2. Pages 153-154, 207 et 231-232 du tome IV des ŒUVRES DE PASTEUR.

3. Voir, tome IV des ŒUVRES DE PASTEUR, p. 207, la figure : Vibrions de la flacherie (Notes de l'Édition.)

morire, pronti a propagandare il male; è l'opinione del dottor Koch¹⁵».

Voi vedete, signore, che sono stato il primo a riconoscere il merito del vostro lavoro sulle spore del bacillo del carbonchio e l'utilità della conoscenza di queste spore per l'eziologia del carbonchio.

Tuttavia, se voi volete rapportarvi al primo volume dei miei *Studi sulla malattia dei bachi da seta*, voi vedrete, nelle pagg. 168, 228, 256¹⁶, che la priorità della scoperta della formazione delle spore in un bacillo patogeno mi appartiene, che ho descritto e raffigurato questo bacillo, che ho indicato la formazione delle spore come la risoluzione della materia circostante dei filamenti, che infine ho dimostrato che queste spore o cisti potevano rigenerarsi parecchi anni dopo la loro formazione. Perché signore avete nascosto tutto questo ai lettori della vostra prima dissertazione? Direte che ignoraste l'esistenza della mia Opera sulla malattia dei bachi da seta che è apparsa nel 1869-70? La vostra asserzione sarebbe senza importanza; perché, in fatto di scienza, si presume che nessuno debba ignorare una scoperta; ma dopo il 1877, quante occasioni avete avuto per ritornare su questi fatti! Vi siete ostinato a non parlarne, per non dover riconoscere che il vostro studio sul bacillo del carbonchio doveva essere considerato, malgrado il suo proprio merito, come una nuova applicazione dei principi anteriori che avevo stabilito. Riassumendo, non siete voi, signore, ad aver trovato il modo di riproduzione dei bacilli e vibriani attraverso le spore; non siete voi ad aver segnalato il loro curioso modo di formarsi; non siete voi ad aver riconosciuto la loro conservazione allo stato di polvere e la lunga durata della loro vitalità. La precisione con la quale ho descritto e raffigurato la formazione di queste cisti, corpuscoli – germi, spore e tale che voi avreste potuto limitarvi ad un ricalco della tavola che la rappresenta alla pag. 228, della mia Opera¹⁷, per introdurla nella vostra dissertazione del 1876, e utilizzarla per ciò che avete detto del bacillo carbonchioso. L'opinione che le spore del bacillo carbonchioso possono propagare il male del carbonchio da un anno all'altro, allo stesso modo che le spore del bacillo della flaccidezza dei bachi da seta possono produrre questa malattia gli anni seguenti, sarebbe sufficiente a darci l'eziologia completa e vera del carbonchio? Nessuno saprebbe sostenerlo. La conoscenza di questa eziologia è data anche dalla scoperta del ruolo dei lombrichi.

¹⁵ Vedere pp. 164-171 del presente volume: *Etude sur la maladie charbonneuse*.

¹⁶ Pagine 153-154, 207 e 231-232 del IV volume delle *ŒUVRES DE PASTEUR*.

¹⁷ Vedere il volume IV delle *ŒUVRES DE PASTEUR*, p. 207, la figura :Vibriens de la flacherie (*Nota dell'Edizione*).

Voilà ce qu'il est nécessaire de vous rappeler, monsieur. Il est vrai que cette découverte sur le rôle des vers de terre ne mérite pas, à vos yeux, la peine qu'on s'y arrête, et, dans le *Recueil de l'Office sanitaire allemand*, vous souriez à la pensée qu'elle ait pu attirer l'attention même de vos compatriotes. Vous avez tort, monsieur. Vous vous préparez encore le mécompte d'un changement d'opinion. C'est ainsi qu'aujourd'hui, après avoir rejeté le grand fait de l'atténuation des virus, vous êtes contraint de l'accepter et d'en faire l'éloge. Vous reviendrez au rôle des vers de terre.

La revue rétrospective à laquelle vous m'obligez n'est pas terminée. Je demande pardon au lecteur de faire un historique où les travaux qui me sont personnels tiennent beaucoup de place ; mais vous semblez, monsieur, ignorer ou méconnaître l'enchaînement des faits. Il y a dans votre brochure une foule de passages où « l'impertinence de l'erreur », ainsi que s'exprime Pascal, est vraiment trop grande.

Depuis les temps les plus reculés, tous les hommes, et plus particulièrement ceux qui s'adonnaient à la pratique de la médecine, ont rapproché deux phénomènes naturels de capitale importance : la maladie ou la fièvre et la fermentation. La pâte de farine et le moût de raisin qui, spontanément, se soulèvent et s'échauffent, rappellent à tout esprit observateur ce mouvement d'accélération du pouls qui s'accompagne d'une élévation de température et qui change l'état de toutes les humeurs du corps.

Aux diverses époques de l'histoire des sciences et de quelque obscurité que fût convertie la connaissance de ces grands phénomènes, on a été porté à croire que le mystère qui les enveloppe est de même nature. C'est ce que le célèbre professeur Tyndall, dans une de ses brillantes leçons de l'Institution royale de Londres, exprimait naguère, en citant ces profondes paroles du physicien Boyle : « Celui qui pourra sonder jusqu'au fond la nature des ferments et des fermentations sera sans doute beaucoup plus capable qu'un autre de donner une juste explication des divers phénomènes morbides (aussi bien des fièvres que des autres affections), phénomènes qui ne seront peut-être jamais bien compris sans une connaissance approfondie de la théorie des fermentations. »

Aussi vit-on, à toutes les époques, les théories médicales, et plus particulièrement celles qui concernent l'étiologie des maladies contagieuses, subir en quelque sorte le contre-coup des explications imaginées pour rendre compte du phénomène de la fermentation. Lorsque j'entrepris, en 1856, mes premières études, la doctrine de Liebig était en pleine faveur. Les ferments, disait Liebig, sont toutes ces

Ecco cos'è necessario ricordarvi, signore. E' vero che questa scoperta sul ruolo dei lombrichi non merita, ai vostri occhi, la pena di fermarvi e, nella Raccolta dell'Ufficio Sanitario Tedesco, voi sorridete al pensiero che essa abbia potuto attirare l'attenzione stessa dei vostri compatrioti. Voi avete torto, signore. Voi vi preparate ancora al disinganno di un cambiamento di opinione. E' così che oggi, dopo aver rigettato il grande fatto dell'attenuazione dei virus, voi siete costretto ad accettarlo ed a farne l'elogio. Voi arriverete al ruolo dei lombrichi. La rivista retrospettiva alla quale voi mi obbligate non è terminata. Chiedo perdono al lettore di fare una cronistoria dove i miei lavori occupano molto spazio; ma voi sembrate, signore, ignorare o misconoscere la connessione dei fatti. Nella vostra brossura c'è una gran quantità di passaggi dove "l'impertinenza dell'errore", come si esprime Pascal, è veramente troppo grande. Dopo i tempi più antichi, tutti gli uomini, e più in particolare quelli che si dedicavano alla pratica della medicina, hanno confrontato due fenomeni naturali di capitale importanza: la malattia o la febbre e la fermentazione. La pasta di farina e il mosto d'uva che spontaneamente si sollevano e si scaldano, ricordano a ogni spirito osservatore questo movimento di accelerazione del polso che si accompagna ad un'elevazione di temperatura e che cambia lo stato di tutti gli umori del corpo. Nelle diverse epoche della storia delle scienze e di qualche oscurità che fu coperta la conoscenza di questi grandi fenomeni, si è stati portati a credere che il mistero che le avvolge è della stessa natura. E' ciò che il celebre professore Tyndall, in una delle sue brillanti lezioni dell'Istituzione Reale di Londra, esprimeva poco fa, citando queste profonde parole del fisico Boyle: "Colui il quale potrà sondare fino a fondo la natura dei fermenti e delle fermentazioni sarà senza dubbio molto più capace di un altro di dare una giusta spiegazione dei diversi fenomeni morbidi (come delle febbri pure delle altre infezioni), fenomeni che forse non saranno mai ben compresi senza una conoscenza approfondita della teoria delle fermentazioni". Così, in tutte le epoche, le teorie mediche e più particolarmente quelle che concernano l'eziologia delle malattie contagiose, si sono viste subire in qualche modo il contraccolpo delle spiegazioni immaginate per rendere conto del fenomeno della fermentazione.

Quando intrapresi, nel 1856, i miei primi studi, la dottrina di Liebig era in pieno favore. I fermenti, diceva Liebig, sono tutte quelle

matières azotées, albumine, fibrine, caséine..., ou les liquides organiques qui les renferment, le lait, le sang, l'urine, dans l'état d'altération qu'elles éprouvent au contact de l'air. Ce mouvement d'altération, elles peuvent le communiquer aux matières fermentescibles qui se résolvent alors en produits nouveaux.

Sous la pression des idées ardemment et habilement défendues par le savant chimiste, au sujet de la nature des ferments, les virus et les processus des maladies furent également considérés comme des résultantes de mouvements intestins de substances en voie d'altération, pouvant se communiquer aux diverses matières de l'être vivant.

La spontanéité était invoquée dans l'origine et la marche des maladies, comme dans celles des fermentations. Pendant vingt années, tous les travaux que je communiquai à l'Académie des sciences concoururent, directement ou indirectement, à démontrer l'inexactitude des opinions de Liebig. Je fis voir, en premier lieu, que dans les fermentations proprement dites on trouve, d'une manière nécessaire, des microbes spéciaux et que là où l'on ne croyait avoir affaire qu'à des matières mortes, en voie d'altération, la vie apparaît, corrélatrice de la fermentation. Je constituai, d'autre part, des milieux fermentescibles dans lesquels il n'existait que trois sortes de substances : la matière pouvant fermenter, des sels minéraux, en troisième lieu, les germes du microbe-ferment. Corrélativement à la multiplication de ce dernier, la fermentation s'établissait et s'achevait. Toute matière albuminoïde étant ainsi écartée au début de la fermentation, la doctrine de Liebig s'effondra et les phénomènes des fermentations se présentèrent comme de simples actes chimiques de décomposition en relation avec la nutrition et le développement de microbes qui empruntaient aux substances environnantes, minérales et fermentescibles, les éléments de leurs propres tissus.

Permettez-moi, monsieur, une courte digression. Quand je me reporte, comme je le fais en ce moment, aux études qui m'ont occupé de 1856 à 1876, long espace de vie pendant lequel vous n'étiez pas né à la science, puisque votre premier travail date de 1876, et où mon unique préoccupation était d'isoler et de faire vivre des microbes à l'état de pureté, dans des milieux appropriés, n'est-il pas plaisant, en vérité, que vous ayez la légèreté de m'accuser de ne point savoir faire les cultures pures !

Vous n'avez donc pas lu, monsieur, entre autres choses, dans les *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, cette sorte de défi que j'ai porté, en 1871, à votre éminent compatriote Liebig, au sujet de la

sostanze azotate, albumine, fibrine, caseine..., o i liquidi organici che le contengono, il latte, il sangue, l'urina, nello stato d'alterazione che provano a contatto con l'aria. Questo movimento d'alterazione, possono trasmetterlo alle materie fermentescibili che si risolvono allora in nuovi prodotti.

Sotto la pressione di idee ardentemente e abilmente difese dal sapiente chimico, riguardo alla natura dei fermenti, i virus e i processi delle malattie furono ugualmente considerati come risultanti di movimenti intestinali di sostanze in via d'alterazione, potendo trasmettersi alle diverse sostanze dell'essere vivente.

La spontaneità veniva invocata per l'origine e la durata delle malattie, come in quella delle fermentazioni. Per vent'anni, tutti i lavori che comunicai all'Accademia delle Scienze concorsero, direttamente o indirettamente, a dimostrare l'inesattezza delle opinioni di Liebig. Io feci vedere, in primo luogo, che nelle fermentazioni propriamente dette si trovano necessariamente, dei microbi speciali e che la dove si credeva di avere a che fare solo con sostanze morte, in via d'alterazione, la strada appare correlativa alla fermentazione. Io costituii, d'altra parte, dei pasti fermentabili nei quali non esistevano che tre tipi di sostanze: la natura fermentabile, dei sali minerali, in terzo luogo, i germi del microbo-fermento. Correlativamente alla moltiplicazione di quest'ultimo, la fermentazione si stabilizzava e si completava. Essendo così allontanata tutta la materia albuminoide all'inizio della fermentazione, la dottrina di Liebig sprofondò e i fenomeni di fermentazione si presentarono come semplici atti chimici di decomposizione in relazione con la nutrizione e lo sviluppo di microbi che prendevano dalle sostanze circostanti, minerali e fermentescibili, gli elementi dei loro stessi tessuti.

Permettetemi, signore, una breve digressione. Quando mi riporto, come lo faccio in questo momento, agli studi che mi hanno occupato dal 1856 al 1876, un lungo tempo durante il quale voi non eravate ancora nato alla scienza, poiché il vostro primo lavoro è datato 1876, e dove la mia unica preoccupazione era di isolare e far vivere dei microbi allo stato di purezza, in luoghi appropriati, non è piacevole, in verità, che voi abbiate la leggerezza di accusarmi di non saper fare delle colture pure!

Dunque, signore, voi avete letto, tra le altre cose, nei *Rendiconti dell'Accademia delle Scienze*, questa sorta di sfida che io ho lanciato, nel 1871, al vostro eminente compatriota Liebig, sulla

grande inexactitude de sa théorie de la fermentation ^{1,2} Vous n'avez donc pas lu que, s'il eût accepté de soumettre le débat à une Commission dont je lui laissais le choix des membres, j'étais en mesure de présenter à celle-ci des fermentations complètes de poids très élevés de sucre candi pur, à l'aide d'une levûre uniquement formée et nourrie dans un milieu minéral sucré, circonstance qui exigeait de la manière la plus absolue que la levûre eût poussé à l'état de pureté irréprochable, au contact d'un air pur ? Mais pourquoi m'arrêter à vos puérides assertions sur le point dont je parle ? Je passe et je reprends mon récit.

La médecine humaine et la médecine vétérinaire s'emparèrent bientôt de la lumière que leur apportèrent les résultats de mes travaux. On s'empessa notamment de rechercher si les virus et les contagions ne seraient pas des êtres microscopiques vivants. —

Le docteur Davaine (1863) ³ s'efforça de mettre en évidence les fonctions réelles de la bactériémie du charbon ; le docteur Chauveau (1868) ⁴ établit que la virulence était due aux particules solides antérieurement aperçues dans les virus ; le docteur Obermeier (1868) ⁵ signala le spirille de la fièvre récurrente ; le docteur Klebs (1872) ⁶ attribua les virus traumatiques à des organismes microscopiques.

La preuve la plus frappante de l'influence que mes travaux sur les fermentations eurent dans la naissance et le développement du mouvement auquel nous assistons touchant l'étiologie des maladies nous est donnée par une circonstance particulière qui concerne l'histoire de l'affection charbonneuse.

Au mois d'août 1850, M. le docteur Rayer, rendant compte des recherches qu'il avait faites, en collaboration avec M. le docteur Davaine, sur la contagion de la maladie appelée charbon ou sang de rate, s'exprime ainsi :

Il y avait, en outre, dans le sang, de petits corps filiformes ayant environ le double en longueur du globule sanguin. Ces petits corps n'offraient point de mouvement spontané ^a (b).

1. *Ibid.*, tome II des Œuvres de Pasteur, p. 331-336 ; Note sur un Mémoire de M. Liebig, relatif aux fermentations.

2. D. DAVAINÉ, CHAUVÉAU. *L'œ. cit.*

3. OBERMEIER, Ueber das wiederkehrende Fieber. *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie*, XLVII, 1863, p. 161 et 128.

4. KLEBS, in TROST (Ed.). Ueber die fiebererregende Eigenschaft des *Microsporum septicitum*. Ein Beitrag zur Lehre von den fieberhaften Wundkrankheiten. *Arbeiten aus dem Kaiserlich-pathologischen Institut*, 1871-1872, herausgegeben von Klebs, 1873, p. 56-72. — Tiegel dit, à la fin de son travail : « Als Ursache der accidentellen Wundkrankheiten hat Prof. Klebs das *Microsporum septicitum* nachgewiesen. »

5. RAYER. Inoculation du sang de rate. *Comptes rendus des séances et Mémoires de la Société de biologie*, II, 1850, p. 141-144. (*Notes de l'Édition*)

grande inesattezza della sua teoria della fermentazione¹⁸? Dunque non avete letto che, se egli avesse accettato di sottoporre il dibattito ad una commissione di cui gli lasciavo la scelta dei membri, io ero in grado di presentare là delle fermentazioni complete di peso molto elevato di zucchero candito puro, con l'aiuto di lievito unicamente formato e nutrito in un luogo minerale zuccherato, circostanza che esigeva nel modo più assoluto che il lievito fosse portato ad uno stato di purezza ineccepibile, a contatto con l'aria pura? Ma perché fermarmi alle vostre puerili asserzioni sul punto di cui parlo? Vado avanti e riprendo il mio discorso.

La medicina umana e quella veterinaria si impadronirono presto del lume che apportarono i risultati delle mie ricerche. Ci si prodigò di scoprire se i virus ed i contagi non fossero dei microscopici esseri viventi. Il dottor Davaine (1863)¹⁹ si sforzò di mettere in evidenza le funzioni reali del bacillo del carbonchio; il dottor Chauveau (1868)²⁰ stabilì che la virulenza era dovuta alle particelle solide precedentemente scoperte nei virus; il dottor Obermeier (1868)²¹ segnalò lo spirillo della febbre ricorrente; il dottor Klebs (1872)²² attribuì i virus traumatici a degli organismi microscopici. La prova più sicura dell'influenza che le mie ricerche sulle fermentazioni ebbero per la nascita e lo sviluppo del movimento al quale noi assistiamo, riguardante l'eziologia delle malattie, ci è data da una circostanza particolare riguardante la storia dell'infezione carbonchiosa. Nell'agosto del 1850, il dottor Rayer, rendendo conto delle ricerche fatte, in collaborazione con il dottor Davaine, sul contagio della malattia chiamata carbonchio o sangue di milza, si esprime così:

“C'erano, inoltre, nel sangue, dei piccoli corpi filiformi aventi circa il doppio di lunghezza del globulo sanguigno. Questi piccoli corpi non si muovevano spontaneamente”²³.

¹⁸ Vedere il volume II delle *ŒUVRES DE PASTEUR*, pp. 361-366 : Note su una Memoria di M. Liebig, relativa alle fermentazioni.

¹⁹ DAVAINÉ, *Loc. cit.*

²⁰ CHAUVEAU, *Loc. cit.*

²¹ OBERMEIER. Ueber das wiederkehrende Fieber. *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie*. XLVII, 1869, p. 161 et 428

²² KLEBS, in TIEGEL (E.), Ueber das fiebererregende Eigenschaft des Microsporion septicum. Ein Beitrag zur Lehre von den fieberhaften Wundkrankheiten. *Arbeiten aus dem Berner pathologischen Institut, 1871-1872, herausgegeben von Klebs*. 1873, p.56-72. - Tiegel dit, à la fin de son travail: “Als Ursache der accidentellen Wundkrankheiten hat Prof. Klebs das Microsporion septicum nachgewiesen.”

²³ RAYER. Inoculation du sang de rate. *Comptes rendus des séances et Mémoires de la Société de biologie*, II, 1850, pp. 141-144. (*Note dell'Edizione*).

Telle est la date véritable de la première observation sur la présence des corps bactériiformes dans la maladie charbonneuse.

Pendant treize années, Rayer et Davaine ne donnèrent aucune autre attention quelconque à ces petits filaments du sang des cadavres morts du charbon. Mais Davaine nous a appris qu'il revint en 1863 sur le rôle possible de ces éléments du sang, à la suite des réflexions que lui avaient suggérées la lecture de ma Communication de 1861, à l'Académie des sciences, sur la fermentation butyrique (1). J'avais annoncé à l'Académie que le ferment de cette fermentation, loin d'être une matière albuminoïde en voie de décomposition spontanée, comme le voulait la théorie de Liebig, était formé par des vibrions mobiles anaérobies. Davaine, frappé de la grande ressemblance de ce microbe-ferment nouveau avec les corps filiformes du sang charbonneux, se demanda si ces derniers ne seraient pas en quelque sorte le ferment de la maladie qu'il avait étudiée autrefois avec le docteur Rayer. Il faut dire, en outre, que, dans cette même année 1863, je venais de démontrer le fait si décisif que, dans l'état de santé, le corps des animaux est fermé à toute introduction de germes extérieurs, que le sang et l'urine sont des liquides tellement exempts de germes de microbes de toute sorte qu'on peut les exposer au contact de l'air, quand celui-ci est privé des germes qu'il porte naturellement en suspension, sans jamais provoquer, à toute température de l'atmosphère, la putréfaction de ces liquides naturels et leur envahissement par des êtres microscopiques (2).

Peu de temps après les recherches de Davaine parurent les premiers travaux de MM. Coze et Feltz (3). Ces habiles et courageux expérimentateurs placent le point de départ de leurs études dans la lecture de mon Mémoire sur la putréfaction (4).

En Allemagne, on ne se méprit pas davantage sur la nécessité de modifier profondément les idées régnantes sur l'étiologie de beaucoup de maladies, en les mettant en harmonie, comme Davaine venait de le tenter pour le charbon, avec les vues que suggéraient les résultats de ces recherches sur les microbes-ferments. Je n'en citerai qu'un exemple : au commencement de l'année 1864, un nouveau journal, le *Berliner klinische Wochenschrift*, parut à Berlin. On trouve dans son

1. Voir, p. 136-138, tome II des ŒUVRES DE PASTEUR : Animalcules infusoires vivant sans gaz oxygène libre et déterminant des fermentations.

2. Voir, p. 165-171, tome II des ŒUVRES DE PASTEUR : Examen du rôle attribué au gaz oxygène atmosphérique dans la destruction des matières animales et végétales après la mort.

3. COZE et FELTZ (V.), Recherches expérimentales sur la présence des infusoires et l'état du sang dans les maladies infectieuses (4 mémoires), *Strasbourg*, 1866-1869, in-8.

4. Voir, p. 175-181, tome II des ŒUVRES DE PASTEUR : Recherches sur la putréfaction. (Notes de l'Édition.)

Quella è la vera data della prima osservazione sulla presenza di corpi batteriformi nel carbonchio. Per tredici anni, Rayer e Davaine non fecero nessun'altra osservazione su questi piccoli filamenti presenti nel sangue dei cadaveri morti di carbonchio. Dopo aver presentato l'osservazione sul suo malato, fece le seguenti riflessioni, sulla *fermentazione butirica*²⁴ suggeritegli dalla lettura della mia comunicazione del 1861, all'Accademia delle scienze:

Avevo annunciato all'Accademia che i fermenti prodotti, lungi dall'essere una materia albuminoide in via di decomposizione spontanea, come voleva la teoria di Liebig, erano formati da dei vibriani mobili anaerobici. Davaine, sorpreso dalla grande somiglianza di questo nuovo microbo-fermento con i corpi filiformi del sangue carbonchioso, si domandò se questi ultimi non fossero in certo modo il fermento della malattia che aveva studiato altre volte col dottor Rayer. Bisogna dire, tra l'altro, che, nello stesso anno 1863, avevo appena dimostrato il fatto così decisivo che, nello stato di salute, il corpo degli animali è protetto dall'intrusione dei germi esterni, che il sangue e l'urina sono dei liquidi talmente esenti da germi di microbi d'ogni sorta che si può esporli al contatto con l'aria, quando quest'ultima è priva dei germi che porta sospesi naturalmente, senza mai provocare, alla temperatura dell'atmosfera, la putrefazione di questi liquidi naturali e la loro invasione da parte di esseri microscopici²⁵.

Poco tempo dopo le ricerche di Davaine comparvero i primi lavori di MM. Coze et Felz²⁶. Questi abili e coraggiosi sperimentatori fissano il punto di partenza dei loro studi nella lettura della mia Mémoire sulla putrefazione²⁷.

In Germania, non ci si inganni maggiormente sulla necessità di modificare profondamente le idee regnanti sull'eziologia di molte delle malattie, mettendole in armonia, come Davaine aveva appena tentato per il carbonchio, con le viste che suggerivano i risultati di queste ricerche sui microbi-fermenti. Non citerò che un esempio: all'inizio dell'anno 1864, un nuovo giornale, il Berliner klinische Wochenschrift, fece la sua comparsa a Berlino. Nel suo decimo numero

²⁴ Vedere pp. 136-138, volume II delle *ŒUVRES DE PASTEUR: Animalcules infusoires vivant sans gaz oxygène libre et déterminant des fermentations*.

²⁵ Vedere pp. 165-171, volume II delle *ŒUVRES DE PASTEUR: Examen du rôle attribué au gaz oxygène atmosphérique dans la destruction des matières animales et végétales après la mort*.

²⁶ COZE e FELTZ (V.), *Recherches expérimentales sur la présence des infusoires et l'état du sang dans les maladies infectieuses* (4 Memorie), Strasburgo, in-8°, 1866-1869.

²⁷ Vedere pp. 175-181, volume II delle *ŒUVRES DE PASTEUR: Recherches sur la putréfaction*. (*Nota dell'Edizione*).

deuxième numéro une leçon clinique du savant professeur docteur Traube (1), dans laquelle il expose une doctrine nouvelle sur la fermentation ammoniacale de l'urine. Après avoir donné l'observation de son malade, il fait les réflexions suivantes :

« Pendant longtemps, dit-il, on a regardé le mucus vésical comme l'agent de la décomposition alcaline de l'urine. On croyait que, par suite de la distension résultant de la rétention du liquide, la vessie irritée produisait une quantité plus grande de mucus, et ce mucus était pris pour le ferment qui amenait la décomposition de l'urée, en vertu d'une force chimique propre. Cette opinion (opinion de Liebig) ne peut tenir devant les recherches de M. Pasteur. Cet observateur a démontré de la façon la plus péremptoire que la fermentation alcaline, comme l'alcoolique, comme l'acétique, est produite par des êtres vivants, dont la préexistence dans la liqueur fermentescible est la condition *sine qua non* du processus. Le fait précédent offre une démonstration remarquable de la doctrine de Pasteur. Malgré la longue durée de la rétention d'urine, la fermentation alcaline de l'urine n'a point été produite par une sécrétion exagérée de mucus vésical ou de pus ; elle ne s'est développée qu'à partir du moment où des germes de vibrions sont parvenus du dehors dans la vessie..... »

On voit bien ici en opposition les deux doctrines, celle de Liebig et la mienne, sur la fermentation et leur influence réciproque et comparée dans l'étiologie d'une des plus graves maladies de la vessie, et que, dès 1864, la signification de mes recherches sur les microbes-ferments, en Allemagne comme en France, n'était douteuse pour personne.

En Angleterre, dès 1865 le docteur Lister commença la brillante série de ses succès en chirurgie par l'application de sa méthode antiseptique, universellement adoptée aujourd'hui. La lettre qu'il m'écrivit au mois de février 1874 (2) et qui fait tant d'honneur à sa sincérité et à sa modestie est le témoignage vivant de l'opinion que je soutiens en ce moment. Je prends la liberté d'en reproduire quelques lignes :

« J'aime à croire que vous pourrez lire avec quelque intérêt ce que j'ai écrit sur un organisme que vous avez le premier étudié dans votre Mémoire (3) sur la fermentation lactique (1857).

« J'ignore si les annales de la chirurgie britannique ont jamais passé sous vos yeux. Dans le cas où vous les auriez lues, vous avez dû y

1. TRAUBE. Sur la fermentation alcaline de l'urine. *Gazette hebdomadaire de médecine et de chirurgie*, 2^e sér., I, 1864, p. 283. (Résumé d'après *Berliner klinische Wochenschrift*, I, 1864, n^o 2.)

2. Voir le texte *in extenso* de cette lettre, p. 40-41, tome V des ŒUVRES DE PASTEUR.

3. Voir ce Mémoire, p. 3-13, tome II des ŒUVRES DE PASTEUR. (Notes de l'Édition.)

si trova una lezione clinica del sapiente professor dottor Traube²⁸, nella quale egli espone una nuova dottrina sulla fermentazione ammoniacale dell'urina. Dopo aver fatto l'osservazione del suo ammalato, fece le seguenti riflessioni:

“Per lungo tempo il muco vescicale è considerato come responsabile della decomposizione alcalina dell'urina. Si credeva che, conseguentemente alla distensione risultante dalla ritenzione del liquido, la vescica irritata produceva una quantità più grande di muco, e questo muco era considerato il fermento che causava la decomposizione dell'urea, in virtù di una forza chimica propria. Questa opinione (di Liebig) non può reggere davanti alle ricerche di Pasteur. Quest'osservatore ha dimostrato nel modo più perentorio che la fermentazione alcalina, come l'acetica è prodotta da degli esseri viventi, di cui la preesistenza nel liquido fermentescibile è la condizione sin qua non del processo. Il fatto precedente offre una dimostrazione notevole della dottrina di Pasteur. Malgrado la lunga durata della ritenzione di urina, la fermentazione alcalina dell'urina non è stata affatto prodotta da un'esagerata secrezione del muco vescicale o di pus; si è sviluppata solo a partire dal momento in cui germi di vibrioni sono giunti dal di fuori alla vescica...”. Si vede bene che sono in opposizione due dottrine, quella di Liebig e la mia, sulla fermentazione e la loro reciproca influenza e sull'eziologia di una delle più gravi malattie della vescica, e che, dal 1864, il significato delle mie ricerche sui microbi – fermenti, in Germania come in Francia, non era dubbiosa per nessuno. In Inghilterra, dal 1865, il dottor Lister cominciò la brillante serie di successi in chirurgia per l'applicazione del metodo antisettico, oggi adottato universalmente. La lettera che mi scrisse nel febbraio 1874²⁹ e che fa tanto onore alla sua sincerità e modestia è la testimonianza vivente dell'opinione che sostengo in questo momento. Mi prendo la libertà di riprodurre qualche riga:

“Mi piace credere che voi potrete leggere con qualche interesse ciò che ho scritto su un organismo che voi per primo avete studiato nella vostra dissertazione³⁰ sulla fermentazione lattica (1857)”.

Ignoro se gli annali di chirurgia britannica siano mai passati sotto i vostri occhi. Nel caso in cui li aveste visti, avreste dovuto

²⁸ TRAUBE, Sur la fermentation alcaline de l'urine. *Gazette hebdomadaire de médecine et de chirurgie*, 2^a serie, I, 1864, p. 233. (Résumé d'après *Berliner klinische Wochenschrift*, I, n° 2, 1864).

²⁹ Vedere il testo *in extenso* di questa lettera, pp. 40-41, volume V delle *ŒUVRES DE PASTEUR*.

³⁰ Vedere questa Dissertazione, pp.3-13, volume II delle *ŒUVRES DE PASTEUR*. (*Note dell'Edizione*).

trouver, de temps à autre, des nouvelles du système antiseptique que, depuis ces neuf dernières années, je tâche d'amener à la perfection.

« Permettez-moi de saisir cette occasion de vous adresser mes plus cordiaux remerciements pour m'avoir, par vos brillantes recherches, démontré la vérité de la théorie des germes de putréfaction et m'avoir ainsi donné le seul principe qui pût mener à bonne fin le système antiseptique..... »

En 1864 et en 1865, je démontrais que toutes les maladies des vins et des boissons fermentées en général étaient produites par des microbes que des températures bien inférieures à 100° peuvent facilement détruire, ce qui permet la conservation ultérieure de ces boissons (1). Enfin, je commençais mes recherches sur les maladies du ver à soie (2), maladies que je prouvai être également la conséquence de l'action d'êtres microscopiques divers.

Tout le récit qui précède, monsieur, vous permettra peut-être de comprendre que, si je ne suis ni médecin ni vétérinaire, comme vous aimez à le rappeler, on s'accorde cependant, en Angleterre et en Allemagne comme en France, à reconnaître la grande part d'initiative que j'ai eue dans les doctrines étiologiques actuelles.

Vous, monsieur, qui êtes entré dans la science en 1876 seulement, après tous les grands noms que je viens de citer, vous pouvez avouer sans déroger que vous êtes un débiteur de la science française. /

Bien que je ne me fusse jamais livré à des études se rapprochant des travaux habituels de l'Académie de médecine, j'eus l'honneur d'être nommé, en 1873, à une place vacante dans la classe des associés libres de cette Académie. J'eus à soutenir tout de suite de vives discussions. Elles mirent en évidence l'opposition aux idées nouvelles, et que la doctrine de la spontanéité en pathologie comptait toujours de nombreux partisans. C'est ce que je rappelai dans la Note présentée à cette Académie et à l'Académie des sciences, le 30 avril 1877, en collaboration avec M. Joubert, au sujet de la fièvre charbonneuse (3): « Un critique judicieux, disais-je, rendant compte au commencement de l'année 1877 d'une nouvelle édition d'un traité de microscopie (4), s'exprime ainsi :

1. Tome III des ŒUVRES DE PASTEUR : Études sur le vinaigre et sur le vin.

2. Tome IV des ŒUVRES DE PASTEUR : Études sur la maladie des vers à soie.

3. Voir, p. 164-171 du présent volume : Étude sur la maladie charbonneuse.

4. DUVAL (M.) et LEREBOLLET (C.). Manuel du microscope. Paris, (2^e édition), 1877, in-12. Notes de l'Édition.)

trovare, prima o poi, delle notizie sul sistema antisettico che in questi ultimi nove anni ho cercato di perfezionare.

“Permettetemi di cogliere questa occasione per inviarvi i miei più cordiali ringraziamenti per avermi dimostrato, attraverso le vostre brillanti ricerche, la verità sulla teoria dei germi della putrefazione e avermi anche dato il solo principio che possa portare a buon termine il sistema antisettico...”.

Nel 1864 e nel 1865, io dimostravo che tutte le malattie dei vini e delle bevande fermentate generalmente erano prodotte da dei microbi che potevano essere distrutti da temperature molto inferiori ai 100°, ciò permetteva l'ulteriore conservazione di queste bevande³¹. Infine, cominciai le mie ricerche sulle malattie del baco da seta³², malattie che io dimostrai essere ugualmente la conseguenza dell'azione di essere microscopici diversi. Tutto lo scritto che precede, signore, forse vi permetterà di comprendere che, se non sono né medico né veterinario, come a voi piace ricordare, tuttavia si è d'accordo, in Inghilterra e in Germania come in Francia, nel riconoscere la grande parte d'iniziativa che ho avuto nelle dottrine eziologiche attuali. Voi, signore, che siete entrato nella scienza solamente dal 1876, dopo tutti i grandi uomini che ho citato, potete riconoscere senza deroghe di essere un debitore della scienza francese. Anche se io non mi ero mai abbandonato a degli studi che si avvicinavano ai lavori abituali dell'*Accademia di Medicina*, ebbi l'onore di essere nominato nel 1873, ad un posto vacante nella classe dei liberi associati di questa Accademia. Ebbi subito da sostenere delle discussioni animate. Esse misero in evidenza l'opposizione alle nuove idee e che la dottrina della spontaneità in patologia contava sempre numerosi seguaci. E' ciò che io ricordai nella Nota presentata a questa Accademia e all'*Accademia delle Scienze*, il 30 aprile 1877, in collaborazione con il signor Joubert, avente per soggetto la febbre carbonchiosa³³:

“Un critico giudizioso, io dicevo, rendendo conto all'inizio del 1877, di una nuova edizione di un trattato di microscopia, si esprime così”:

³¹ Volume III delle *ŒUVRES DE PASTEUR*: Études sur le vinaigre et sur le vin.

³² Volume IV delle *ŒUVRES DE PASTEUR*: Études sur la maladie des vers à soie.

³³ DUVAL (M.) e LEREBoulLET (C.). Manuel du microscope. Parigi (2° edizione), 1877, in-12. (*Note dell'Edizione*).

« On a remanié ce qui a trait aux maladies parasitaires et principalement au rôle des infusoires, vibrions et bactéries. Les auteurs de ce traité estiment que l'on a singulièrement abusé de l'existence et du rôle de ces êtres animés et que jamais ils ne devront être considérés comme donnant naissance aux maladies infectieuses. C'est tout au plus si leur développement peut imprimer à l'évolution d'une maladie de ce genre un caractère spécial et si l'on est en droit de les considérer comme les agents de certaines complications de ces maladies. Ces idées sont conformes à celles que M. Paul Bert a récemment exprimées. »

En effet, M. Paul Bert venait d'annoncer à la Société de biologie, dans sa séance du 13 janvier 1877 (1), « qu'il était possible de faire périr le *bacillus anthracis* dans la goutte de sang par l'oxygène comprimé, d'inoculer ce qui reste et de reproduire la maladie et la mort sans que la bactériodie se montre ». Il ajoutait : « Les bactériodies ne sont donc ni la cause ni l'effet nécessaire de la maladie charbonneuse. Celle-ci est due à un virus. »

Ces faits et ces conclusions ont été produits, monsieur, postérieurement à votre premier travail de 1876 qui, vous le voyez, n'avait rien de péremptoire. Il vous eût été impossible de réfuter les résultats des expériences de M. Paul Bert.

C'est alors que je résolus d'entrer pleinement dans l'étude de cette maladie charbonneuse qui, par les nombreuses recherches auxquelles elle avait donné lieu, servait comme de point de mire dans toutes les discussions. Frappé d'hémiplégie à la fin de l'année 1868, privé depuis cette époque de l'usage de la main gauche, j'avais besoin d'un collaborateur dévoué que je trouvai dans la personne d'un ancien élève de l'École Normale supérieure, M. Joubert, professeur de physique très distingué du collège Rollin.

Qu'avions-nous à faire, M. Joubert et moi, pour résoudre la question de savoir si la maladie charbonneuse doit être attribuée à une substance solide ou liquide associée aux filaments découverts par Davaine, ou si elle dépend exclusivement de la présence et de la vie de ces filaments ? Il suffisait d'appliquer les méthodes qui, depuis vingt ans, me servaient dans l'étude des microbes ferments. — Voulais-je démontrer, par exemple, que le microbe-ferment de la fermentation butyrique est l'agent même de la décomposition, je préparais un liquide artificiel mêlé à la matière fermentescible, où je faisais développer le microbe à l'état de pureté. Ce microbe ense-

1. BERT (P.). *Loc. cit.* — Voir aussi, à ce sujet, p. 164-171 du présent volume : Étude sur la maladie charbonneuse. (Noté de l'Édition.)

“Si è modificato ciò che ho portato alle malattie parassitarie e principalmente al ruolo degli infusori, vibrioni e batteri. Gli autori di questo trattato ritengono che si è singolarmente abusato dell’esistenza e del ruolo di questi esseri animati e che mai essi dovranno essere considerati responsabili della nascita delle malattie infettive. Tutt’al più si può vedere se il loro sviluppo può imprimere all’evoluzione di una malattia di questo tipo un carattere speciale e se si ha il diritto di considerarli come i responsabili di certe complicazioni di queste malattie. Queste idee sono conformi a quelle che il signor Paul Bert ha appena espresso”.

In effetti, il signor Paul Bert aveva appena annunciato alla *Società di Biologia*, nella seduta del 13 gennaio 1877³⁴, “che era possibile far morire il bacillo del carbonchio nella goccia di sangue attraverso l’ossigeno compresso, d’inoculare quel che resta e di riprodurre la malattia e morte senza che si manifesti il bacillo del carbonchio”. Aggiungeva: “I bacilli non sono quindi né la causa né l’effetto necessario del carbonchio. Questo è dovuto ad un virus”. Questi fatti e queste conclusioni sono stati prodotti, signore, dopo il vostro primo lavoro del 1876 che, vedete, non aveva niente di perentorio. Vi fu impossibile rifiutare i risultati delle esperienze del signor Paul Bert. E’ allora che decisi di entrare pienamente nello studio di questa malattia del carbonchio che, per le numerose ricerche cui aveva dato luogo, serviva come bersaglio in tutte le discussioni. Colpito da emiplegia alla fine del 1868 e privato dell’uso della mano sinistra, avevo bisogno di un collaboratore devoto che trovai nella persona di un vecchio allievo della Scuola Normale Superiore, il signor Joubert, un professore di fisica molto distinto del collegio Rollin. Cosa dovevamo fare, il signor Joubert ed io, per risolvere la questione di sapere se il carbonchio deve essere attribuito ad una sostanza solida o liquida associata ai filamenti scoperti da Davaine, o se dipendeva esclusivamente dalla presenza e dalla vita di questi filamenti? Era sufficiente applicare i metodi che da vent’anni utilizzavo nello studio dei microbi-fermenti. Volevo dimostrare, per esempio, che il microbo-fermento della fermentazione *butirrica* è anche l’agente della decomposizione, io preparavo un liquido artificiale mescolato con la sostanza fermentescibile, dove facevo sviluppare il microbo allo stato puro. Questo microbo

³⁴ BERT (P.). *Loc. cit.* - Vedere, a questo proposito, anche pp. 164-171 del presente volume: *Etudes sur la maladie charbonneuse. (Nota dell’Edizione).*

mencé dans un autre liquide artificiel, semblable au premier, s'y multipliait et provoquait de nouveau une fermentation identique, et ainsi de suite indéfiniment. Il fallait donc isoler le microbe du sang charbonneux, le cultiver à l'état de pureté parfaite dans des liquides inertes et revenir alors à la recherche de son action sur les animaux. C'est cette méthode que nous appliquâmes avec les variantes nécessitées par l'objet de la recherche. C'est cette méthode que chacun s'efforçait de suivre et qui avait été déjà mise en pratique par quelques observateurs. Bientôt, par la Note que je lus à l'Académie des sciences, le 30 avril 1877 (1), il fut démontré cette fois sans réplique que la bactériodie découverte par Davaine en 1850 était réellement l'agent unique de la maladie. Après quelques expériences de contrôle, M. Paul Bert s'empressa de se ranger à cette opinion devant la Société de biologie de Paris, avec une loyauté toute française (2). — Aujourd'hui, lorsque je repasse dans mon esprit toutes les preuves qui ont été produites pour démontrer que la bactériodie est bien la cause unique du charbon, une seule de ces preuves peut-être ne laisse place au moindre doute. C'est celle qui résulte d'une expérience que nous avons faite dans les caves de l'Observatoire. Elle a consisté à abandonner à la température constante de ces caves, pendant quelques jours, dans un tube à essai un peu conique, suspendu verticalement, une culture d'ordre élevé du parasite charbonneux. Dans ces conditions, les filaments et les spores de ce parasite tombent peu à peu au fond du liquide qu'on a eu soin de choisir d'une limpidité irréprochable. On inocula ensuite simultanément le liquide des couches supérieures, par comparaison avec celui des couches profondes, et il fut constaté que le premier était inoffensif, que le second donnait la mort par le charbon. La filtration elle-même du sang charbonneux, ou d'un liquide de culture sur du plâtre ou sur de la porcelaine laisse à désirer comme preuve, parce qu'on peut objecter que la matière du filtre est propre à retenir une substance dissoute dans laquelle on supposerait que réside la nocuité du sang ou de la culture. M. Vulpian m'apprenait dernièrement qu'il avait fait cette très intéressante observation que la filtration d'une solution de strychnine, assez chargée du poison pour donner la mort à des animaux, peut céder la strychnine à la matière d'un filtre de plâtre et rendre ainsi le liquide filtré inoffensif.

J'ai hâte d'aborder maintenant la discussion de l'atténuation du

1. Voir, p. 164-171 du présent volume: Étude sur la maladie charbonneuse.

2. Bert (P.). *Loc. cit.* (Notes de l'Édition.)

inseminato in un altro liquido artificiale, simile al primo, vi si moltiplicava e provocava nuovamente una fermentazione identica, e così di seguito indefinitamente. Bisognava dunque isolare il microbo dal sangue carbonchioso, coltivarlo allo stato di purezza perfetta nei liquidi inerti e ritornare allora alla ricerca della sua azione sugli animali. E' questo il metodo che applicammo con le varianti necessarie per l'oggetto della ricerca. E' questo il metodo che ciascuno si sforzava di seguire e che era già stato messo in pratica da qualche osservatore. Presto, dalla nota che lessi all'Accademia delle Scienze il 30 aprile 1877³⁵, si dimostrò, questa volta senza discutere, che il bacillo del carbonchio scoperto da Davaine nel 1850, era realmente l'unico responsabile della malattia. Dopo alcune esperienze di controllo, il signor Paul Bert si affrettò a presentare questa opinione davanti alla Società di Biologia di Parigi, con una lealtà tutta francese³⁶. Oggi, nel momento in cui rivedo nella mia mente tutte le prove che sono state prodotte per dimostrare che il bacillo del carbonchio è l'unica causa del carbonchio, forse una sola di queste prove non lascia spazio al minimo dubbio, è ciò che risulta da un'esperienza che abbiamo fatto nelle cantine dell'Osservatorio. E' consistita nell'abbandonare alla temperatura costante di questi scantinati, per qualche giorno, in un tubo di prova un po' conico, sospeso verticalmente, una coltura virulenta del parassita del carbonchio. In queste condizioni, i filamenti e le spore di questo parassita cadono a poco a poco in fondo al liquido che si è avuto cura di scegliere di una limpidezza ineccepibile. Dopo, si inoculò simultaneamente il liquido degli strati superiori per compararli con quelli degli strati profondi, e fu constatato che il primo era inoffensivo, mentre, il secondo causava la morte per carbonchio. La filtrazione stessa del sangue carbonchioso o di un liquido di coltura su del gesso o su della porcellana lascia a desiderare come prova, perché si può obiettare che la materia del filtro trattiene una sostanza disciolta nella quale si supporrebbe che risieda la nocività del sangue o della coltura. Ultimamente il signor Vulpian mi informava che aveva fatto l'osservazione molto interessante che la filtrazione di una soluzione di stricnina, molto carica di veleno per dare la morte agli animali, può cedere la stricnina alla sostanza di un filtro di gesso e rendere così inoffensivo il liquido filtrato. Ora io ho fretta di iniziare la discussione sull'attenuazione del

³⁵ Vedere pp. 164-171 del presente volume : *Étude sur la maladie charbonneuse*.

³⁶ BERT (P.). *Loc. cit. (Note dell'Edizione)*.

virus charbonneux et de l'immunité qu'elle est à même de conférer.

Je vous sais gré, monsieur, de constater que vous et vos élèves avez bien changé de conviction depuis la publication du *Recueil impérial sanitaire* de 1881. Loin de nier aujourd'hui le grand fait de l'atténuation des virus et en particulier du virus charbonneux, vous l'exaltez comme une conquête scientifique de première importance. Nous sommes complètement d'accord sur ce point. C'est bien vainement que vous essayez de reporter l'honneur de cette découverte à une personne qui n'a fait que suivre l'inspiration de mes premiers travaux ⁽¹⁾.

Pourquoi donc, en 1881, prétendiez-vous que le principe même de la méthode d'atténuation du *bacillus anthracis* reposait sur une erreur ?

Au lieu de reconnaître que vous vous êtes trompé en affirmant qu'à 42°-43° le bacillus donne des spores, ce qui est, en effet, de tout point contraire au principe de la méthode, telle que je l'avais exposée, vous cherchez à vous excuser en assurant que ma Note du 28 février 1881 ⁽²⁾ donnait d'une manière incomplète le procédé d'atténuation du virus charbonneux. Ce qui est vrai, c'est que, quand vous vous êtes astreint à suivre les indications de cette Note, pas à pas, sans y rien changer, vous avez réussi, comme le savant docteur Feltz et plusieurs autres, à atténuer le virus charbonneux et à obtenir des cultures dépourvues de spores à 42°-43°.

Mais si vous vantez aujourd'hui la valeur de la découverte de l'atténuation des virus sous le rapport scientifique, vous vous empressez de la condamner au point de vue pratique.

Je craindrais, monsieur, d'affaiblir vos critiques, en ne citant pas textuellement sur ce point le principal passage de votre brochure :

« En France, dites-vous, le nombre des moutons vaccinés s'élevait, au commencement du mois de septembre, à 400.000, et celui des bêtes à cornes à 40.000. Les pertes occasionnées par les inoculations préventives étaient, suivant les estimations de Pasteur, de 3 pour 1.000 pour les moutons, et de 0,5 pour 1.000 pour les bêtes à cornes. Il va de soi que je ne mets nullement en doute l'exactitude de ces chiffres, mais il est nécessaire d'y ajouter un commentaire. Ces chiffres, en effet, ne nous apprennent absolument rien, si ce n'est qu'un nombre considérable d'animaux ont subi l'inoculation préventive sans inconvénient. Or, ce qui nous importe, c'est de savoir si le but de l'inoculation préventive a été atteint, et si ces animaux ont réellement acquis l'immu-

1. Toussaint.

2. Voir, p. 332-333 du présent volume : De l'atténuation des virus et de leur retour à la virulence. (*Notes de l'Édition.*)

virus del carbonchio e dell'immunità che può conferire. Io vi sono grato, signore, di constatare che voi e i vostri allievi avete cambiato convinzione dopo la pubblicazione della Raccolta Imperiale Sanitaria del 1881. Oggi, ben lontano dal negare il grande fatto dell'attenuazione dei virus e in particolare del virus del carbonchio, voi l'esaltate come una conquista scientifica di primaria importanza. Noi siamo pienamente d'accordo su questo punto. Molto vanamente voi cercate di riportare l'onore di questa scoperta ad una persona che non ha fatto altro che seguire i miei lavori³⁷. Perché, dunque, nel 1881, pretendevate che il principio stesso del metodo d'attenuazione del bacillo del carbonchio poggiasse su di un errore? Invece di riconoscere che vi siete sbagliato affermando che a 42°- 43° il bacillo produce spore, ciò che in effetti è contrario al principio del metodo come lo avevo esposto, cercate di scusarvi assicurando che la nota del 28 febbraio 1881³⁸, trattava in maniera incompleta il processo d'attenuazione del virus del carbonchio. Quel che è vero è che, quando vi siete attenuto a seguire passo a passo le indicazioni di questa nota, senza cambiare niente, voi siete riuscito, come il sapiente dottor Feltz e molti altri, ad attenuare il virus del carbonchio ed a attenuare delle colture prive di spore a 42° - 43°. Ma se oggi vantate il valore della scoperta dell'attenuazione dei virus sotto il profilo scientifico, voi avete fretta di condannarla dal punto di vista pratico. Io temerei, signore, di affievolire le vostre critiche, non citando testualmente su questo punto il passaggio principale della vostra brossura:

“In Francia, dite, il numero delle pecore vaccinate ammontava, all'inizio di settembre, a centomila e quello dei bovini a quarantamila. Le perdite causate dalle inoculazioni preventive erano, seguendo le stime di Pasteur, del 3 per 1000 per gli ovini e del 0,5 per 1000 per i bovini. Va da sé che non metto in dubbio l'esattezza di queste cifre, ma è necessario aggiungervi un commento. Queste cifre, in effetti, non dicono assolutamente niente, se non che un numero considerevole di animali ha subito l'inoculazione preventiva senza inconvenienti. Ora, quello che ci importa, è di sapere se l'obiettivo dell'inoculazione preventiva è stato raggiunto e se questi animali hanno realmente acquisito l'immunità,

³⁷ TOUSSAINT.

³⁸ Vedere pp. 332-338 del presente volume : De l'atténuation des virus et de leur retour à la virulence. (*Nota dell'Edizione*).

nité, sur quoi M. Pasteur ne nous apprend rien... Certes, rien ne procurerait plus rapidement à l'inoculation préventive une entière confiance comme de pouvoir compter des milliers d'animaux notablement préservés de cette maladie. C'est ce que M. Pasteur n'a pu faire jusqu'ici; au contraire, dans ces derniers temps, les plaintes relatives aux insuccès de l'inoculation préventive se sont accumulées, et les côtés faibles de cette pratique ont été mis de plus en plus en évidence.

Vous vous trompez étrangement, monsieur. J'ai reproduit, il y a quelques jours, devant l'Académie des sciences, des résultats qui répondent entièrement à vos préoccupations et qui sont bien faits pour vous rassurer. Ce n'est pas moi qui les ai recueillis, et j'espère qu'ils vous intéresseront à un double titre. Je reproduis textuellement ma Communication du 18 décembre 1882.

[Pasteur reproduit ici sa Communication : Une statistique au sujet de la vaccination préventive contre le charbon, portant sur quatre-vingt-cinq mille animaux. Voir p. 414-417 du présent volume.] (*Note de l'Édition.*)

Pour les autres nombreux départements où la vaccination a été pratiquée, il n'a pas encore été fait de travail statistique d'ensemble, comme pour celui d'Eure-et-Loir; mais une foule de lettres de vétérinaires m'informent que les résultats n'ont pas été moins satisfaisants. Dans le nombre, il y a des exemples saisissants par les preuves qu'ils offrent de la grande efficacité de la vaccination nouvelle, dans la comparaison qu'on a pu faire entre les mortalités des troupeaux où les animaux vaccinés et non vaccinés se trouvaient réunis et soumis aux mêmes influences.

Vous avouerez, monsieur, que le résumé de la Société vétérinaire de Chartres sur les vaccinations pratiquées dans le département d'Eure-et-Loir, et comprenant 85.000 animaux, répond à toutes vos insinuations. Je considère donc que ce serait peine perdue de vous suivre sur le terrain des appréciations que vous formulez au sujet des expériences de Kapuvar, en Hongrie; de Packisch, en Allemagne; de l'École vétérinaire de Turin, en Italie; des fermes de Beauchery et de Montpotier, dans Seine-et-Marne, en France (1).

Que de partialité, monsieur, et quelles inexactitudes dans votre exposition! Si, dans les expériences de Packisch, des moutons vaccinés

1. Voir, à ce sujet : CHAMBERLAND (Ch.). Le charbon et la vaccination charbonneuse. Paris, 1883, B. Tignol, viii-316 p. in-8° (fig.). On y trouvera, p. 119-203 : Les Rapports sur les expériences de vaccination charbonneuse, faites en France; et p. 205-248 : Les Rapports sur les expériences de vaccination charbonneuse faites à l'étranger (en Autriche-Hongrie, en Allemagne, en Italie, en Belgique, en Suisse et en Angleterre). [*Note de l'Édition.*]

sulla quale il signor Pasteur non ci dice niente...

Certo, niente procurerebbe più rapidamente all'inoculazione preventiva una completa fiducia come il poter contare migliaia di animali notoriamente preservati da questa malattia. E' quello che fin qui il signor Pasteur non ha potuto fare; al contrario, in questi ultimi tempi, le lamentele relative agli insuccessi dell'inoculazione preventiva si sono accumulate, e le parti deboli di questa pratica sono state messe sempre in evidenza.

Voi, signore, vi sbagliate stranamente. Qualche giorno fa, io ho riprodotto davanti all'Accademia delle Scienze, dei risultati che rispondono interamente alle vostre preoccupazioni e che son fatti per rassicurarvi. Non sono io ad averli raccolti e spero che vi interesseranno a doppio titolo. Riproduco testualmente la mia comunicazione del 18 dicembre 1882.

(Pasteur riproduce qui la sua comunicazione: una statistica sulla vaccinazione preventiva contro il carbonchio, riguardante 425.000 animali. Vedere pp.414-417 del presente volume).

Per gli altri numerosi dipartimenti dove la vaccinazione è stata praticata, non è ancora stato fatto un lavoro statistico complessivo, come per quelli di Eure-et-Loir; ma un sacco di lettere di veterinari mi informano che i risultati non sono stati meno soddisfacenti. Nel numero, ci sono degli esempi sorprendenti per le prove che offrono sulla grande efficacia della nuova vaccinazione, nel confronto che si è potuto fare tra la mortalità delle greggi dove gli animali vaccinati e non vaccinati si trovavano riuniti e sottomessi alle stesse influenze. Voi riconoscerete, signore, che il riassunto della Società Veterinaria di Chartres sulle vaccinazioni praticate nel dipartimento di Eure-et-Loir, comprendente 85.000 animali, risponde a tutte le vostre insinuazioni. Penso che sarebbe tempo perso seguirvi sul terreno degli apprezzamenti che formulate sulle esperienze di Kapuvar, in Ungheria; di Packisch, in Germania; della Scuola di veterinaria di Torino, in Italia; delle fattorie di Bauchert e di Monpottier, sulla Seine-et-Marne, in Francia³⁹. Quanta parzialità, signore, e quante inesattezze nella vostra esposizione! Se, nelle esperimenti di Packisch, le pecore vaccinate

³⁹ Vedere, a questo proposito : CHAMBERLAND (Ch.). Le charbon et la vaccination charbonneuse. Parigi, 1883, B. Tignol, VIII-316 p. in 8° (fig.). Si troveranno, pp. 119-203 : i rapporti sulle esperienze della vaccinazione carbonchiosa fatte all'estero (in Austria-Ungheria, in Germania, in Italia, in Belgio, in Svizzera e in Inghilterra). (*Nota dell'Edizione*).

résistent en très grande majorité au virus virulent (22 sur 22 dans la première série, et 24 sur 25 dans la seconde), vous affirmez que le virus d'épreuve envoyé par moi devait être déjà affaibli. Or, non seulement ce virus employé a tué tous les moutons témoins, ce qui a été le garant de sa virulence; mais il est relaté, en outre, expressément dans le Rapport de la Commission de Berlin que celle-ci a utilisé, contrairement à votre assertion, dans les deux séries d'épreuves, du sang pris sur des cadavres de moutons morts charbonneux. Vous affirmez, d'autre part, que les résultats sur les champs de Packisch, où on a conduit les animaux vaccinés, pour les comparer avec d'autres non vaccinés, sont très défavorables à la vaccination, tandis qu'il est constaté, notamment dans le dernier Rapport de M. le docteur Müller (1) du mois de décembre 1882, que, jusqu'à présent, il est mort deux fois plus de moutons non vaccinés (8) que de moutons vaccinés (4), quoique le nombre des moutons vaccinés, ce que vous taisez, l'emporte d'un cinquième environ sur celui des non vaccinés. Attendons des nombres de morts plus élevés pour être mieux édifiés (2). Quant aux bœufs, vous faites remarquer qu'il est mort un vacciné, et également un non vacciné; mais vous omettez de dire qu'il y avait vingt fois plus de bœufs vaccinés que de non vaccinés; le Rapport ne donne pas le nombre des bœufs non vaccinés: je tiens de M. Thuillier qu'ils étaient au nombre de 4, tandis qu'il y en avait 83 vaccinés.

J'en ai pas sous les yeux les résultats de la comparaison des pertes des moutons vaccinés et non vaccinés à Kapuvar (3), dans le domaine de M. le baron de Berg; ce que je sais, c'est que M. de Berg, dans une lettre récente, demande du vaccin pour vacciner cinq mille moutons, preuve suffisante de l'utilité des résultats qu'il aura obtenus.

A l'École vétérinaire de Turin, une première expérience a totalement échoué; mais il est avéré que le sang charbonneux qui a été inoculé, le 23 mars 1882, aux moutons vaccinés et non vaccinés provenait d'un mouton mort du charbon depuis plus de vingt-quatre heures. Or, il résulte des faits constatés dans les expériences que nous avons faites en 1877, et qui ont été communiquées à l'Académie des sciences le 16 juillet de la même année (4), que le sang de ce

1. Voir les « Rapports sur les expériences de Packisch », in : CHAMBERLAND. Le charbon et la vaccination charbonneuse, p. 215-229; et le Mémoire de MÜLLER (C. F.). Die Milzbrandimpfungen in Packisch. *Archiv für die wissenschaftliche und practische Thierheilkunde*, VIII, 1882, p. 319-336.

2. Voir, p. 459 du présent volume : Sur la vaccination charbonneuse.

3. Voir les « Rapports de Thuillier sur les expériences de Budapest et de Kapuvar », in : CHAMBERLAND. *Loc. cit.*, p. 205-212.

4. Voir, p. 172-188 du présent volume : Charbon et septicémie. (Notes de l'Édition.)

resistono in grande maggioranza al virus (22 su 22 nella prima serie e 24 su 25 nella seconda), voi affermate che il virus di prova da me inviato doveva essere già attenuato. Ora, non solo questo virus impiegato ha ucciso tutte le pecore teste, ciò è stata la garanzia della sua virulenza, inoltre è riportato espressamente nel Rapporto della Commissione di Berlino che nelle due serie di prove ha utilizzato del sangue preso da cadaveri di pecore morte di carbonchio. D'altra parte voi affermate che i risultati sui campi di Packisch, dove si sono condotti gli animali vaccinati per confrontarli con altri non vaccinati, sono molto sfavorevoli alla vaccinazione, mentre è stato constatato nell'ultimo rapporto del dottor Müller⁴⁰ del mese di dicembre 1882, che fino ad oggi sono morti il doppio di ovini non vaccinati rispetto a quelli vaccinati, sebbene il numero di ovini vaccinati, e questo voi lo tacete, supera di circa un quinto quello dei non vaccinati. Per saperne di più⁴¹ attendiamo un numero maggiore di morti. Quanto ai buoi, voi sottolineate che è morto uno vaccinato come uno non vaccinato; ma omettete di dire che i buoi vaccinati erano venti volte di più di quelli non vaccinati; il Rapporto non dà il numero dei buoi non vaccinati: io so dal signor Thuillier che essi erano 4, mentre ve n'erano 83 vaccinati. Non ho sotto gli occhi i risultati del confronto della perdita degli ovini vaccinati e non vaccinati a Kapuvar⁴², nella tenuta del Barone di Berg; quello che so è che il signor di Berg in una lettera recente, chiede del vaccino per vaccinare 5000 ovini, prova sufficiente dell'utilità dei risultati che egli avrà ottenuto. Nella Scuola veterinaria di Torino una prima esperienza è totalmente fallita; ma è stato accertato che il sangue carbonchioso che è stato inoculato, il 23 marzo 1882, agli ovini vaccinati e non vaccinati, proveniva da un ovino morto di carbonchio da più di 24 ore. Ora, dai fatti constatati dalle esperienze condotte nel 1877 e che sono state comunicate all'Accademia delle Scienze il 16 luglio dello stesso anno⁴³, risulta che il sangue di questo

⁴⁰ Vedere i “Rapporti sulle esperienze di Packisch” in Chamberland. *Le charbon et la vaccination charbonneuse.*, pp. 215-229; e le memorie di Müller (C. F.). *Die Milzbrandimpfungen in Packisch. Archiv für die wissenschaftliche und practische Thierheilkunde*, VIII, 1882, pp. 319-336.

⁴¹ Vedere p. 459 del presente volume: *Sur la vaccination charbonneuse.*

⁴² Vedere i “Rapports de Thuillier sur les experiences de Budapest et de Kapuvar” in: Chamberland. *Loc. cit.*, pp. 205-213.

⁴³ Vedere pp. 172-188 del presente volume: *Charbon et septicémie. (Note dell'Edizione).*

mouton devait être à la fois charbonneux et septique. Je n'ignore pas que, tout récemment, l'École vétérinaire de Turin (1) a publié et envoyé à beaucoup de savants, en Europe, une protestation contre l'interprétation que je donne ici, interprétation que j'ai déjà signalée dans la séance de la *Société centrale vétérinaire* de Paris, le 8 juin 1882 (2). Je regrette vivement de me trouver en désaccord, sur ce point, avec l'École vétérinaire de Turin. Bien que six de ses membres aient signé la protestation dont je parle, le respect de la vérité m'oblige à maintenir mon affirmation. L'École de Turin, j'en suis persuadé, reconnaîtra ultérieurement sa méprise.

La seconde expérience que l'École de Turin (3) a bien voulu faire a ma demande a eu un succès relatif que j'estime très grand, quoique, à l'inoculation virulente, il soit mort deux moutons vaccinés sur six, mais ni bœuf ni cheval, tandis que dans les non vaccinés il est mort quatre moutons sur quatre, un bœuf sur deux et deux chevaux sur deux. Encore faudrait-il que M. Bassi, qui a dirigé cette seconde série d'expériences, nous eût dit quelle quantité de sang charbonneux il avait inoculée aux deux moutons vaccinés morts. A la ferme de Lambert, près de Chartres, en 1881, on a fait mourir également des moutons vaccinés en forçant volontairement la dose de la matière d'inoculation. Ces expériences ont été reprises avec le même résultat par M. Guillebeau, à Berne (4).

Il semble, monsieur, que vous vous soyez attaché à donner, de la manière la plus erronée, les résultats des vaccinations de Beauchery et de Montpottier, dans Seine-et-Marne, dont la relation se trouve insérée au *Bulletin* de la séance du 13 juillet 1882 de la *Société centrale de médecine vétérinaire* de Paris, relation faite par l'un de ses membres, M. Mathieu (5). Vous présentez ces résultats comme très

1. Voir, sur les expériences de Turin, p. 442-445 du présent volume : Sur la vaccination charbonneuse, et p. 452-458 : la Commission de l'École vétérinaire de Turin.

2. Voir, p. 386-390 du présent volume : Sur certains accidents consécutifs à la vaccination charbonneuse.

3. Voir : « Expériences d'Italie », in CHAMBERLAND. *Loc. cit.*, p. 231-235.

4. Voir : « Expériences de Suisse », in CHAMBERLAND. *Loc. cit.*, p. 242-245 ; et GUILLEBEAU. *Schweizer. Archiv. für Tierheilkunde und Thierzucht*, 1882, p. 129.

5. MATHIEU. Sur la vaccination charbonneuse (quatre observations sur les vaccinations charbonneuses pratiquées par M. Maldan). *Recueil de médecine vétérinaire* (séance du 3 juillet 1882 de la Société centrale de médecine vétérinaire), 6^e sér., VIII, 1882, p. 796-800.

La Communication de M. Mathieu se termine ainsi : « Ici, Messieurs, se terminent les intéressantes observations de M. Maldan. Je les fais suivre de la note de M. Pasteur :

« 23 juin 1882.

« Cette lettre est très judicieuse. A la moindre perte dans les troupeaux vaccinés de novembre 1881 à fin mars 1882, il faudra revacciner.

ovino doveva essere al contempo carbonchioso e settico. Non ignoro ciò che ha affermato recentemente la Scuola veterinaria di Parigi, l'8 giugno 1882⁴⁴. Mi dispiace vivamente trovarmi in disaccordo, su questo punto, con la Scuola veterinaria di Torino. Sebbene sei dei suoi membri abbiano firmato la protesta di cui parlo, il rispetto della verità mi obbliga a mantenere la mia affermazione. Sono persuaso che la Scuola di Torino riconoscerà ulteriormente il suo sbaglio.

La seconda esperienza che la Scuola di Torino⁴⁵ ha voluto condurre ha avuto un successo relativo che reputo molto grande sebbene in seguito all'inoculazione virulenta, sono morti due ovini vaccinati su sei, ma né buoi né cavalli, mentre tra i non vaccinati sono morti 4 ovini su 4, un bue su due e 2 cavalli su 2. Ancora, bisognerebbe che il signor Bassi, che ha diretto questa seconda serie di esperimenti, ci dicesse quale quantità di sangue carbonchioso aveva inoculato ai due montoni vaccinati e morti. Nella fattoria di Lambert, vicino a Chartres, nel 1881, si sono fatti ugualmente morire degli ovini vaccinati modificando volontariamente la quantità di sostanza inoculata. Questi esperimenti sono stati ripresi con lo stesso risultato del signor Guillebeau, a Berna⁴⁶.

Mi sembra, signore, che voi vi siate messo a dare, nel modo più sbagliato, i risultati delle vaccinazioni di Beauchery e di Montpottier, in Seine-et-Marne, la cui relazione si trova inserita nel Bollettino della seduta del 13 luglio 1882, della Società Centrale di Medicina Veterinaria di Parigi, relazione redatta da uno dei suoi membri, il signor Mathieu⁴⁷. Voi presentate questi risultati totalmente

⁴⁴ Vedere pp. 386-390 del presente volume: Sur certains accidents consecutifs à la vaccination charbonneuse.

⁴⁵ Vedere: "Expériences d'Italie", in CHAMBERLAND. *Loc. cit.*, pp.231-235.

⁴⁶ Vedere: "Expériences de Suisse", in CHAMBERLAND. *Loc. cit.*, pp. 242-245, e GUILLEBEAU. *Schweizer. Archiv. fürThierheilkunde und Thierzucht*, 1882, p. 129.

⁴⁷ MATHIEU. Sur la vaccination charbonneuse (quattro osservazioni sulle vaccinazioni carbonchiose praticate da M. Maldan). *Recueil de medecine vétérinaire* (seduta del 13 luglio 1882 della Società centrale di medicina veterinaria), 6° ser., VIII, 1882, pp. 796-800.

La comunicazione di Mathieu termina così: "Qui, Signori, si concludono le interessanti osservazioni di M. Maldan. Le faccio seguire dalle note di M. Pasteur:

"23 giugno 1882.

"Questa lettera è molto saggia. Alla minima perdita nelle greggi vaccinate da novembre 1881 a fine marzo 1882, bisognerà rivaccinare.

"In questo intervallo, ci sono stati dei vaccini mal'equilibrati e deboli che hanno portato ad una immunità di qualche mese e non di un anno.

"I vaccini attuali sono altrettanto buoni, anche migliori di quelli dell'anno scorso, da giugno a settembre.

"M. Maldan non deve avere alcun problema circa l'avvenire della nuova profilassi.- *Essa è seduta sulla roccia.*". (Note dell'Edizione).

opposés à l'utilité de la vaccination, tandis qu'en réalité ils sont tout à son honneur.

Vous citez 296 moutons vaccinés à Beauchery, en avril et mai 1882, qui, un mois après, perdaient quatre de leurs sujets et vous les comparez à 80 moutons non vaccinés qui, eux, n'ont perdu aucun des leurs, dans le même intervalle de temps. Mais ce que vous ne dites pas et ce qui se trouve tout à côté de ce précédent passage dans la relation de M. Mathieu, c'est que le troupeau des 80 moutons non vaccinés avait été extrait d'un autre qui comptait 140 moutons et qui avait perdu antérieurement 15 sujets. Ce que vous ne dites pas également, c'est que ce n'est pas 296 vaccinés qui étaient en comparaison avec les 80 non vaccinés, mais bien 672. Ce que vous ne dites pas surtout, c'est que les troupeaux dont il s'agit appartiennent à une ferme où sévit fortement le charbon. En effet, voici la première partie de l'observation relatée par M. Mathieu :

Dans le courant de juillet 1881, M. T. J., cultivateur à Beauchery (Seine-et-Marne) a perdu 60 bêtes de son troupeau.

En août, M. le professeur Nocard a vacciné chez lui 380 moutons ; 140 ont été laissés comme témoins sans être vaccinés. A la date du 15 janvier 1882, le lot des vaccinés (380) avait perdu quatre des siens. Le lot des non vaccinés (140) en avait perdu quinze. Ainsi plus de 10 pour 100 de perte chez les non vaccinés et 1 pour 100 seulement chez les vaccinés.

Quoi de plus probant en faveur de la vaccination ! Qu'y-a-t-il d'étonnant d'ailleurs que, dans une ferme aussi meurtrière, 4 moutons vaccinés sur un total de 672 meurent du sang de rate au mois de juin ? Tant de partialité, monsieur, dans vos appréciations n'aura-t-elle pas lieu de surprendre vos lecteurs ?

Pour la ferme de Montpottier, vous êtes plus inexact encore. Je me borne à signaler une seule de vos omissions dans le récit que vous empruntez à M. Mathieu ; c'est qu'il s'agit d'une ferme tellement décimée par le charbon qu'en 1878 elle a perdu du sang de rate 250 moutons sur 250 et qu'elle était atteinte du charbon au moment de la vaccination.

« Dans cet intervalle, il y a eu des vaccins mal équilibrés et faibles qui n'ont dû amener qu'une immunité de quelques mois et non d'une année.

« Les vaccins actuels sont aussi bons, meilleurs même que ceux de l'an passé, de juin à septembre.

« Que M. Maklan n'ait aucune inquiétude sur l'avenir de la nouvelle prophylaxie. — Elle est assise sur le roc. » L. PASTEUR. (Notes de l'Édition.)

opposti all'utilità della vaccinazione, mentre in realtà sono tutti a suo favore. Voi parlate di 296 ovini vaccinati a Beauchery, in aprile e maggio 1882, che un mese dopo perdevano 4 soggetti e voi gli confrontate con 80 ovini non vaccinati che non ne hanno perduto neanche uno nello stesso lasso di tempo. Ma quello che non dite e che si trova vicino a questo passaggio nella relazione dal signor Mathieu, è che il gregge degli 80 montoni non vaccinati era stato estratto da un altro che contava 110 ovini e che aveva precedentemente perso 15 soggetti. Ugualmente non dite che non sono 296 vaccinati ad essere confrontati con gli 80 non vaccinati, ma ben 672. Quello che soprattutto non dite è che le greggi di cui si parla appartengono ad una fattoria dove il carbonchio imperversava fortemente. In effetti, ecco la prima parte dell'osservazione riportata dal signor Mathieu:

nel corso del mese di luglio 1881, M.T.J., coltivatore a Beauchery ha perso 60 animali del suo gregge. In agosto, il professor Nocard ha vaccinato 380 ovini: 140 sono stati lasciati come teste senza essere stati vaccinati. Il 15 gennaio 1882, la parte dei vaccinati (380) aveva perso 4 dei suoi. La parte dei non vaccinati (140) ne aveva perso 15. Così, più del 10% di perdita tra i non vaccinati e l'1% solamente tra i vaccinati. Niente di più probante in favore della vaccinazione! Cosa c'è di stupefacente dal momento che, in una fattoria così assassina, 4 ovini vaccinati su un totale del 672 muoiono di carbonchio nel mese di giugno? Signore, tutta questa parzialità nelle vostre stime non sorprenderà i vostri lettori? Per la fattoria di Montpottier, voi siete ancora più inesatto. Mi limito a segnalare una sola delle vostre omissioni nello studio che prendete dal signor Mathieu; è che si tratta di una fattoria talmente decimata dal carbonchio che nel 1878, ha perso 250 ovini su 250 e che al momento della vaccinazione era colpita dal carbonchio.

Un autre passage de votre brochure m'a singulièrement surpris. Voici vos propres paroles :

« L'immunité ne peut pas être produite pour toutes les espèces animales. Jusqu'ici, le procédé de Pasteur ne paraît applicable que pour les bêtes à cornes et les moutons... »

« Lœffler ⁽¹⁾ a trouvé que des cochons d'Inde, des rats, des lapins et des souris ne peuvent acquérir l'immunité, et ce fait a été confirmé par tous les expérimentateurs qui ont porté leur attention sur ce point. Gotti ⁽²⁾, de Bologne, a pratiqué l'inoculation [préventive] sur six lapins, sans parler d'autres animaux; après quoi, il les inocula avec du sang charbonneux; tous ces lapins ont succombé au charbon. Les lapins inoculés par M. Guillebeau, à Berne, avec le vaccin de M. Pasteur ont également péri du charbon, après avoir été inoculés ultérieurement avec du sang charbonneux. Dans les expériences instituées sur des cobayes et des souris avec du virus vaccinal expédié de Paris, tous les animaux ont succombé au charbon.

« A l'Office sanitaire, de nombreuses expériences ont été faites sur des lapins, des cobayes et des souris avec du virus charbonneux ayant subi différents degrés d'atténuation et finalement avec du virus-vaccin fourni par M. Pasteur. Malgré tous les efforts, on n'a jamais réussi à conférer à aucun de ces animaux l'immunité contre le virus charbonneux non atténué. »

Dans un autre passage de votre brochure, vous vous appuyez sur des expériences de même ordre, faites en Angleterre par le D^r Klein et insérées au mois de septembre dernier dans le *British Medical Journal* ⁽³⁾.

Il est vraiment inconcevable que la pratique de la vaccination préventive soit attaquée au nom de toutes les expériences dont je viens de vous emprunter l'exposé; expériences aussi défectueuses dans leur principe que dans leurs conclusions. M'est-il donc jamais arrivé, monsieur, de conseiller la vaccination des lapins ou des cobayes avec des vaccins préparés pour les moutons et les bœufs ?

Vous vous trompez d'ailleurs étrangement, lorsque vous affirmez que ces races de petits animaux ne peuvent être vaccinées contre le charbon virulent. La chose est facile et, tout récemment encore, le D^r Feltz y est aisément parvenu, comme on peut le voir dans un

1. LÖFFLER (F.). *Loc. cit.*

2. GOTTI (A.). *Inoculazione preventiva del carbonchio o vaccinazione carbonchiosa di Pasteur. Giornale di medicina veterinaria*, XXXI, 1882, n. 357-383.

3. KLEIN. Experiments with vaccin charbonneux. *British Medical Journal*, 7 octobre 1882, II, p. 692; et *The Veterinarian*, 1882, p. 611. (Notes de l'Édition.)

Un altro passaggio della vostra brossura mi ha sorpreso in modo singolare, ecco le vostre parole:

“L’immunità non può essere prodotta per tutte le specie animali. Sin qui il procedimento di Pasteur non sembrava applicabile che per i buoi e gli ovini...”.

“Loeffler⁴⁸ ha scoperto che dei porcellini d’India, dei ratti, conigli e topi non possono acquisire l’immunità e questo fatto è stato confermato da tutti gli sperimentatori che hanno puntato la loro attenzione su questo punto. Gotti⁴⁹, di Bologna, ha praticato l’inoculazione preventiva su sei conigli, senza parlare di altri animali; dopo di ciò, gli inoculò del sangue carbonchioso, tutti questi conigli sono morti per il carbonchio. I conigli inoculati dal signor Guillebeau, a Berna, col vaccino del signor Pasteur sono ugualmente morti di carbonchio, dopo essere stati ulteriormente inoculati con il sangue carbonchioso. Negli esperimenti fatti su dei porcellini d’India e dei topi con il virus vaccinale spedito da Parigi, tutti gli animali sono deceduti per il carbonchio. All’Ufficio Sanitario, sono stati fatti numerosi esperimenti su dei conigli, dei porcellini d’India e dei topi, col virus del carbonchio che aveva subito vari gradi di attenuazione e poi, finalmente col virus - vaccino fornito da Pasteur. Malgrado tutti gli sforzi, non si è mai riusciti a conferire ad alcuno di questi animali l’immunità contro il virus del carbonchio non attenuato”.

In un altro passaggio della vostra brossura, voi vi appoggiate su due esperienze dello stesso ordine, condotte in Inghilterra dal Dott. Klein e inserite a settembre nel *British Medical Journal*⁵⁰. E’ veramente inconcepibile che la pratica della vaccinazione preventiva sia attaccata a nome di tutte le esperienze che ho appena esposte, esperienze così difettose tanto nel principio che nelle conclusioni. Dunque, è mai capitato di consigliare la vaccinazione dei conigli o dei porcellini d’India con dei vaccini preparati per gli ovini ed i buoi? Voi vi sbagliate, stranamente d’altronde, quando affermate che queste razze di piccoli animali non possono essere vaccinate contro il carbonchio virulento. La cosa è facile e molto recentemente, il Dott. Feltz vi è arrivato facilmente come possiamo vedere in un

⁴⁸ LOEFFLER (F.). *Loc. cit.*

⁴⁹ GOTTI (A.). Inoculazione preventiva del carbonchio o vaccinazione carbonchiosa di Pasteur. *Giornale di medicina veterinaria*, XXXI. 1882, pp. 357-383.

⁵⁰ KLEIN. Experiments with vaccin charbonneux. *British Medical Journal*, 7 ottobre 1882. II, p. 692; e *The Veterinarian*, 1882, p. 611. (*Note dell’Edizione*).

Compte rendu de l'Académie des sciences (1). Vous n'avez pas réussi dans vos expériences et voilà tout. Je serais tenté, si vous aviez pris dans toute cette discussion une autre attitude, de vous envoyer à Berlin des cobayes et des lapins vaccinés que vous ne pourriez faire périr de l'affection charbonneuse, afin de vous faire toucher du doigt le tort que vous avez de considérer toujours comme n'étant pas réalisable un fait que, par une insuffisance d'expérimentation, vous n'avez pu reproduire.

Le D^r Klein a commis la même faute. Avec le vaccin des moutons, il a inoculé des lapins et des cochons d'Inde. J'ai peine à comprendre également que le D^r Klein, qui jouit, à juste titre, en Angleterre, d'une réputation d'expérimentateur de mérite, ait choisi, pour éprouver l'immunité de deux moutons vaccinés, un sang charbonneux qu'il avait commencé par maintenir 21 jours à 42°, sans paraître s'être inquiété de savoir ce qui était advenu à ce sang, si sa pureté s'était conservée, s'il n'avait pas donné asile à des microbes étrangers.

Vous attachez, monsieur, une grande importance aux expériences que vous avez faites en donnant à des moutons, vaccinés ou non, des repas rendus infectieux par des spores de bactériidies mêlées à leurs aliments.

Vous essayez de conclure de ces résultats que :

L'infection charbonneuse naturelle offre plus de danger pour les moutons que le charbon développé par voie d'inoculation.

Comment pouvez-vous soutenir une pareille hérésie ?

Vous auriez dû, en premier lieu, monsieur, rappeler que les expériences que vous relatez sont imitées de celles que j'avais faites en 1878, avec la collaboration de M. Chamberland, sur les champs de la ferme de Saint-Germain, près de Chartres (2) ; c'est avec de tels repas contaminés par des spores charbonneuses que nous avons communiqué la maladie et la mort ; mais la proportion de la mortalité n'avait été que de 33 pour 100, tandis qu'elle est de 100 pour 100 par les inoculations directes. Vous auriez dû également rappeler que nous augmentions le chiffre de la mortalité quand des objets piquants, tels que des barbes d'orge coupées, étaient associés aux spores dans les aliments. Je vous accorde volontiers que des spores seules, même

1. FELTZ. Sur le rôle des vers de terre dans la propagation du charbon, et sur l'atténuation du virus charbonneux. *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, séance du 6 novembre 1882, XCV, p. 859-862.

2. Voir, p. 225-229 du présent volume : Recherches sur l'étiologie et la prophylaxie de la maladie charbonneuse dans le département d'Eure-et-Loir. *Notes de l'Édition.*

*Rendiconto dell'Accademia delle Scienze*⁵¹. Ecco tutto, voi non siete riuscito nei vostri esperimenti. Se in tutta questa discussione voi vi foste comportato diversamente, io sarei tentato di inviarvi a Berlino dei porcellini d'India e dei conigli vaccinati che voi non potreste far morire di carbonchio, per farvi toccare con mano il torto che fatte nel considerare sempre irrealizzabile un fatto che non avete potuto riprodurre per insufficienza di sperimentazione. Il Dott. Klein ha commesso lo stesso sbaglio. Egli ha vaccinato conigli e alcuni porcellini d'India con il vaccino degli ovini. Mi sforzo di comprendere ugualmente che il Dott. Klein che in Inghilterra gode, a giusto titolo, di una reputazione di sperimentatore di pregio, abbia scelto, per provare l'immunità di due ovini vaccinati, un sangue carbonchioso che aveva tenuto per ventun giorni a 42°, senza sembrare essersi preoccupato di sapere cosa era successo a quel sangue, se si era conservata la sua purezza o se invece non aveva dato asilo a microbi estranei. Voi, signore, attribuite una grande importanza agli esperimenti che avete fatto dando agli ovini, vaccinati e non, dei pasti resi infettivi da delle spore di bacilli mescolati ai loro alimenti. Da questi risultati voi cercate di concludere che:

“L'infezione carbonchiosa naturale arreca maggior danno agli ovini del carbonchio sviluppatosi per inoculazione”. Come potete sostenere mai una simile eresia? In primo luogo avreste dovuto ricordare che gli esperimenti che proponete sono imitazioni di quelli che avevo fatto nel 1878, con la collaborazione del signor Chamberland, sui campi della fattoria di Saint-Germain, vicino a Chartres⁵²; è attraverso questi pasti contaminati da spore del carbonchio che abbiamo trasmesso la malattia e la morte; ma la proporzione della mortalità era stata del 33%, mentre quella è del 100% attraverso inoculazioni dirette. Avreste anche dovuto ricordare che noi aumentavamo le cifre della mortalità quando degli oggetti pungenti, come delle spighe d'orzo tagliate, erano associate alle spore negli alimenti. Volentieri, vi do ragione del fatto che delle spore da sole,

⁵¹ FELTZ. Sur le rôle des vers de terre dans la propagation du charbon, et sur l'attenuation du virus charbonneux..Comptes rendus de l'Académie des sciences, seduta del 6 novembre 1882, XCV, pp. 859-862.

⁵² Vedere pp. 225-229 del presente volume : *Recherches sur l'étiologie et la prophylaxie de la maladie charbonneuse dans le département d'Eure-et-Loir. (Note dell'Edizione).*

sans objets piquants, pourraient donner le charbon et le communiquer par la muqueuse intestinale aussi bien que par la muqueuse de la bouche et de l'arrière-gorge ; mais comment pouvez-vous raisonnablement déduire de vos expériences que, sur les champs, les conditions de la contagion soient plus dangereuses que celles du charbon directement inoculé ? Comment ne voyez-vous pas qu'il est impossible de comparer les nombres des spores dans des repas contaminés avec les nombres des spores que les animaux peuvent ingérer par les fourrages sur les champs ou dans les étables ? Comment ne voyez-vous pas que la question de savoir si l'on peut tuer des moutons vaccinés par des repas infectés est tout à fait indépendante du jugement que l'on doit porter sur la pratique de la vaccination ? Comment ne voyez-vous pas enfin qu'il est inutile de demander à la vaccination de faire des tours de force ? N'en est-ce pas un déjà assez grand que celui qui consiste à éprouver l'immunité que confère la vaccination, en montrant que la très grande majorité et souvent la totalité des animaux vaccinés résistent à l'inoculation virulente ! Oseriez-vous tenter la même épreuve avec le vaccin de Jenner ? Oseriez-vous, après avoir vacciné cent enfants, les inoculer par le virus de la variole noire ? Un grand nombre mourrait peut-être de la variole, et cependant rejetteriez-vous la vaccine de Jenner comme le proposent follement quelques-uns ? Eh bien ! cette épreuve terrible est celle que dans la vaccination nouvelle nous avons faite à Pouilly-le-Fort, à Packisch, à Kapuvar et tant d'autres lieux.

En résumé, monsieur, laissant de côté l'inexactitude manifeste de vos citations et de vos jugements, j'estime qu'une seule chose est à retenir de votre brochure : c'est que vous êtes contraint, après l'avoir méconnue, de célébrer la découverte de l'atténuation des virus.

Au temps seul appartient un jugement sur les bienfaits qu'elle peut rendre à l'agriculture de tous les pays. Dès à présent, les résultats qu'elle a obtenus dans une première année d'application sont assez considérables pour que les critiques et les contradictions n'aient pu arrêter la progression de son développement.

Toutes violentes que soient vos attaques, monsieur, elles n'entraveront pas son succès. J'attends également avec confiance les conséquences que cette méthode de l'atténuation des virus tient en réserve pour aider l'humanité dans sa lutte contre les maladies qui l'assiègent.

senza oggetti pungenti, potrebbero contagiare il carbonchio e trasmetterlo attraverso la mucosa intestinale altrettanto bene che attraverso la mucosa della bocca e del fondo della gola; ma come potete dedurre ragionevolmente dalle vostre esperienze che sui campi le condizioni di contagio siano più dannose di quelle del carbonchio inoculato direttamente? Non vedete che è impossibile confrontare il numero di spore che gli animali possono ingerire attraverso il foraggio sui campi o nelle stalle? Non vedete che la questione di sapere se si possono far morire degli animali vaccinati con dei pasti infetti è del tutto indipendente dal giudizio che bisogna fare sulla pratica della vaccinazione? Non vedete, infine, che è inutile chiedere alla vaccinazione di fare dei tours de force? Non è abbastanza provare l'immunità che conferisce la vaccinazione, mostrando che la grande maggioranza e spesso la totalità degli animali vaccinati resistono all'inoculazione virulenta! Oserete tentare la stessa prova con il vaccino del vaiolo nero? Forse un gran numero morirebbe di vaiolo e tuttavia rigettereste il vaccino di Jenner come qualcuno propone follemente? E bene! Questa prova terribile è quella che per il nuovo vaccino abbiamo fatto a Poultry-le-Fort, a Packisch, a Kapuvar e tanti altri posti. Riassumendo, signore, lasciando da parte l'inesattezza evidente delle vostre citazioni e dei vostri giudizi, penso che una sola cosa bisogna prendere dalla vostra brossura: è che voi siete obbligato, dopo averla rigettata, a celebrare la scoperta dell'attenuazione dei virus. Solo al tempo appartiene un giudizio sui benefici che può rendere all'agricoltura di tutti i paesi. Fin da ora, i risultati che ha ottenuto in un primo anno di applicazione sono assai importanti affinché le critiche e le contraddizioni non abbiano potuto fermare la progressione del suo sviluppo. Pur violente che siano le vostre accuse, signore, non intralceranno il suo successo. Aspetto ugualmente con fiducia le conseguenze che questo metodo dell'attenuazione dei virus tiene in riserva per aiutare l'umanità nella sua lotta contro le malattie che l'assediano.

Sull'attenuazione dei virus

L. Pasteur, *De l'attenuation de virus*. [Avec la collaboration de MM. Chamberland, Roux et Thuillier].
Revue scientifique, 3^a serie, IV, 16 settembre 1882.

DE L'ATTÉNUATION DES VIRUS

[AVEC LA COLLABORATION DE MM. CHAMBERLAND, ROUX ET THUILLIER (1)].

Messieurs,

Le comité directeur de ce Congrès, sachant que je devais passer le temps des vacances dans le Jura, à quelques heures de votre belle ville de Genève, a eu l'obligeance de me convier à vous faire une Communication sur *l'atténuation des virus*. J'ai accepté avec empressement, heureux de me trouver un instant l'hôte d'un peuple ami de la France, ami des bons comme des mauvais jours. Je nourrissais d'ailleurs l'espoir de me rencontrer ici avec des contradicteurs de mes travaux de ces dernières années. Si les congrès sont un terrain de rapprochement et de conciliation, ils sont au même degré un terrain de discussions courtoises. Nous sommes tous animés d'une passion supérieure, la passion du progrès et de la vérité.

Messieurs,

Vous savez que nos connaissances sur les virus se sont enrichies récemment de données précieuses qui ont pris naissance dans les recherches que j'ai publiées, en 1880, sur le microbe de la maladie dite *choléra des poules*.

Un virus, alors même qu'il est constitué par un microbe, peut, sans un changement très marqué dans sa morphologie générale, être atténué dans sa virulence, conserver celle-ci dans des cultures, produire des germes et, sous son nouvel état, communiquer une maladie passagère, capable de préserver de la maladie mortelle, propre à l'action de ce virus dans son état de nature⁽²⁾.

1. Communication faite, le 5 septembre 1882, au *Quatrième Congrès international d'hygiène et de démographie*, tenu à Genève du 7 au 9 septembre 1882. *Genève*, 1883, I, p. 127-145. — *Revue scientifique*, n° du 16 septembre 1882, 3^e sér., IV, p. 353-361.

2. Il est remarquable cependant que les microbes atténués du charbon et leurs germes n'ont pas la même stabilité que ceux de la bactérie du charbon naturel des terres ou des

DE L'ATTENUATION DE VIRUS.
[*Avec la collaboration de MM. Chamberland,
Roux et Thuillier*]¹.

Signori,

Il comitato direttivo di questo Congresso, sapendo che dovevo passare il tempo delle vacanze nel Jura, a qualche ora dalla vostra bella villa di Ginevra, ha avuto l'idea di convocarmi a fare una Comunicazione sull'*attenuazione dei virus*. Ho accettato subito, felice di trovarmi per un momento ospite di un popolo amico della Francia, amico dei buoni come dei cattivi giorni. Avevo la speranza di incontrarmi qui con dei contraddittori dei miei lavori di questi ultimi anni. Se i congressi sono un terreno di avvicinamento e di conciliazione, sono allo stesso modo, un terreno di discussioni cortesi. Noi siamo tutti animati da una passione superiore, la passione del progresso e della verità.

Signori,

Voi sapete che le nostre conoscenze sui virus si sono arricchite recentemente di dati preziosi nati dalle ricerche che ho pubblicato, nel 1880, sul microbo della malattia chiamata *colera dei polli*.

Un virus, anche se costituito da un microbo, può senza un cambiamento marcato nella sua morfologia generale, essere attenuato nella sua virulenza, conservandola nelle colture, produrre dei germi e, nel suo nuovo stato, trasmettere una malattia passeggera, capace di preservare dalla malattia mortale, propria dell'azione di questo virus nel suo stato naturale².

¹ Comunicazione fatta il 5 settembre 1882, al 4° Congresso Internazionale di Igiene e Demografia, tenutosi a Ginevra dal 7 al 9 settembre 1882. Ginevra, 1883, I, pp. 127-145. *Revue scientifique*, n° del 16 settembre 1882, 3ª serie, IV, pp. 353-361.

² È rimarchevole che i microbi attenuati del carbonchio ed i loro germi non hanno la stessa stabilità di quelli del batterio del carbonchio naturale delle terre dove vi sono animali carbonchiosi. Ci sono tali microbi e germi del carbonchio attenuato che muoiono in qualche mese, mentre, dopo il 21 marzo 1877, cioè dopo più di cinque anni, cerco ogni anno la vita e la virulenza dei germi naturali formati originariamente da una soluzione minerale, detta di Pasteur, da una goccia di sangue di montone morto *spontaneamente* di carbonchio, e la virulenza originaria è un'apparenza sempre uguale. Questi germi uccidono ancora dei montoni in meno di quarant'otto ore.

Cette précieuse modification peut se produire par une simple exposition du virus à l'oxygène de l'air. Cette action de l'oxygène est d'ailleurs variable avec la température à laquelle elle s'exerce et avec le milieu qui contient le virus et dans lequel il a pris naissance.

Ces faits, constatés d'abord pour le microbe du choléra des poules, ont été étendus depuis au microbe du charbon dans une série d'études où j'ai eu pour collaborateurs MM. Chamberland et Roux. Vers la température de + 16° comme aussi vers celle de + 43° centigrades (températures qui sont voisines de celles où la culture du *bacillus* est impossible), ce bacillus ne forme plus de spores dans divers bouillons de culture, le bouillon de poules, par exemple. Son exposition au contact de l'air à ces températures, particulièrement à celles de + 42° et + 43°, l'atténue progressivement, de jour en jour, jusqu'à supprimer chez lui toute virulence, et bientôt même le fait périr, en le rendant impropre à toute culture (1).

La preuve certaine que c'est à l'oxygène de l'air qu'il faut attribuer l'atténuation du microbe du choléra des poules a été donnée par un moyen fort simple. Il suffit de comparer les effets de cultures conservées à l'abri de l'oxygène avec ceux de cultures semblables exposées à l'influence de l'air. Celles-ci périssent en quelques mois, après avoir passé par des phases diverses d'atténuation, tandis que les cultures conservées à l'abri de l'air, en tubes clos, se montrent pour ce microbe encore très virulentes après plusieurs années.

Les propriétés du *bacillus anthracis* ou microbe du charbon différent à beaucoup d'égards de celles du microbe du choléra des

animaux charbonneux. Il y a tels microbes et tels germes du charbon atténués qui périssent en quelques mois, tandis que, depuis le 21 mars 1877, c'est-à-dire depuis plus de cinq ans, j'essaye chaque année la vie et la virulence de germes naturels formés originairement dans une solution minérale dite de Pasteur, par semence d'une gouttelette de sang d'un mouton mort spontanément du charbon, et la virulence d'origine est en apparence toujours égale. Ces germes tuent encore des moutons en moins de quarante-huit heures.

1. On trouve dans un Mémoire d'un élève du docteur Koch, M. Loeffler (*Recueil des travaux de l'Office sanitaire allemand*), qui a paru à la fin de l'année 1881, ce qui suit :

« La fameuse expérience de Pouilly-le-Fort dont le résultat a été surprenant est accueillie avec réserve, non sans raison. Et, en effet, la base de la découverte de Pasteur est que le *bacillus anthracis* ne produit plus de spores à 42-43° dans le bouillon neutralisé de poulet. Or, Koch a démontré qu'il fournit des spores tout aussi vigoureusement à 43°, à condition de le cultiver à plat, au lieu de le cultiver en profondeur dans des ballons » [p. 142].

A quoi veut-on en venir dans le laboratoire de M. Koch par ces insinuations ? Qu'importe que M. Koch, dans des expériences autrement disposées que les nôtres, croie obtenir des résultats différents ! En quoi cela peut-il infirmer nos conclusions ?

En vérité, se serait-on attendu à un pareil jugement sur le succès éclatant de l'expérience de Pouilly-le-Fort !

* LÖFFLER (Fr.). Zur Immunitätsfrage. Mittheilungen aus dem kaiserl. Gesundheitsamte. I, 1881, p. 137-187. (Note de l'Édition)

Questa preziosa modificazione può prodursi per una semplice esposizione del virus all'ossigeno contenuto nell'aria. Quest'azione dell'ossigeno è variabile con la temperatura alla quale viene esposto nell'ambiente che contiene il virus e nell'ambiente in cui il virus è nato.

Questi fatti, constatati, inizialmente, con il microbo del colera dei polli, sono stati estesi, poi, al microbo del carbonchio da una serie di studi per i quali ho avuto come collaboratori MM. Chamberland e Roux. Con la temperatura di 16° e con quella di 43° (temperature vicine a quelle in cui la coltura dei *bacilli* è impossibile), questo bacillo non forma più delle spore nei diversi brodi di coltura, come, per esempio, il brodo di pollo. La sua esposizione a contatto con l'aria, a queste temperature, particolarmente a quelle di 42° e 43°, lo attenua progressivamente, di giorno in giorno, sino ad eliminare tutta la virulenza, e altresì farlo presto perire, rendendolo improprio a qualsiasi coltura³.

La prova certa che è l'ossigeno dell'aria il responsabile dell'attenuazione del microbo del colera dei polli è stata data da un semplice mezzo. È sufficiente comparare gli effetti delle colture conservate al riparo dall'ossigeno con quelli delle colture simile esposte all'influenza dell'aria. Queste periscono in qualche mese, dopo essere passati attraverso diverse fasi d'attenuazione, mentre le colture conservate al riparo dell'aria, in tubi chiusi, fanno trovare questo microbo ancora molto virulento dopo molti anni.

Le proprietà del *bacillo dell'antrace* o microbo del carbonchio sono molto diverse da quelle del microbo del colera dei polli.

³ Si trova in una Memoria di un allievo del dottor Koch, M. Loeffler (*Recueil des travaux de l'Office sanitaire allemand**, apparso alla fine del 1881) ciò che segue:

“La famosa esperienza di Pouilly-le-Fort della quale il risultato è stato sorprendente, è stata accolta con riserva, non senza motivo. E, in effetti, la base della scoperta di Pasteur è che il *bacillo dell'antrace* non produca più spore a 42-43° nel brodo neutralizzato di pollo. Ora, Koch ha dimostrato che produce in abbondanza spore anche a 43°, a condizione di coltivarle in piano, anziché coltivarle in profondità nei palloni”. [p. 142].

Perché andare nel laboratorio di M. Koch, per queste insinuazioni? Che importa se M. Koch, nelle sue esperienze, diverse dalle nostre, crede di ottenere dei risultati diversi! In che cosa questo può cambiare le nostre conclusioni? In verità ci si sarebbe attesi lo stesso giudizio sui successi eclatanti di Pouilly-le-Fort!

*LOEFFLER (Fr.), Zur Immunitätsfrage, *Mittheilungen aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1881, p. 137-187. (Nota dell'Edizione).

poules. Ces différences font qu'il se prête moins bien que son congénère à des observations de la nature de celles dont je viens de parler concernant l'action de l'oxygène. Cela est dû à cette circonstance que le microbe du charbon, sous sa forme des filaments, meurt promptement en tube fermé à l'abri du contact de l'air. On peut tourner la difficulté et mettre encore en évidence l'influence de l'air sur la virulence du microbe charbonneux par l'artifice suivant : Supposons, pour fixer les idées, qu'onensemence un bouillon et qu'on le distribue en tubes fermés qu'on place ensuite à 42° — 43°, et qu'il y ait mort des tubes en six jours, ce dont on s'assure aisément en ensemençant tous les jours un des tubes. Rien ne s'oppose à ce qu'on fasse avec la culture du cinquième jour, veille de la mort des tubes fermés, une nouvelle culture également à l'abri de l'air, laquelle sera mise à son tour à 42° — 43°. Si la nouvelle culture meurt encore en six jours, on pourra en préparer une troisième qui sera toujours distribuée ensuite, en tubes fermés, et dont la semence sera prise dans la culture du cinquième jour, et ainsi de suite. En même temps qu'on procède à ces séries de cultures successives mises à l'abri de l'air, on prépare des cultures parallèles en flacons, au contact de l'air.

Comparons alors les virulences des tubes fermés avec les virulences des cultures, des mêmes jours, qui auront été exposées au contact de l'air. On constate que les virulences des cultures exposées à l'air sont de plus en plus atténuées et ne peuvent donner la mort à des cobayes, tandis que celles des cultures en tubes fermés les font périr (1).

L'action de l'oxygène de l'air dans l'atténuation du microbe charbonneux est donc tout aussi incontestable que pour le microbe du choléra des poules. L'influence de l'oxygène pour l'atténuation du microbe

1. Le 6 avril 1881, on distribue en tubes fermés un bouillonensemencé par le *bacillus anthracis* virulent; une partie du bouillon est mise en culture à l'air. Le 11 avril, les tubes fermés ne cultivent plus : le bacillus est mort, réduit en granulations sans vie. On sème la culture du 10, c'est-à-dire de la veille, dans du bouillon qu'on distribue en tubes, fermés ensuite à la lampe. On fait également une culture au contact de l'air.

Le 16 avril, les tubes fermés ne cultivent plus; on sème la culture du 15, c'est-à-dire celle de la veille, et on distribue en tubes fermés et aussi en un flacon au contact de l'air.

Le 23 avril, les tubes fermés ne cultivent plus. On continue ces cultures d'après la même méthode.

Le 7 mai, on inocule à des cobayes les cultures issues d'un tube fermé du 21 avril, d'un tube fermé du 28 avril, d'un tube fermé du 29 avril. En même temps, on inocule à des cobayes les cultures au contact de l'air des flacons des mêmes jours, 21, 28, 29 avril.

Le 12 mai, on trouve morts les cobayes aux cultures en tubes fermés, tandis que ceux aux cultures en flacons ouverts se portent très bien et n'ont pas cessé d'être bien portants les jours suivants.

Par un virus charbonneux virulent, la mort des cobayes arrive en quarante-huit heures, trois jours au plus. Dans l'exemple que je cite, elle n'est arrivée que le cinquième jour; c'est la preuve que la virulence s'était un peu affaiblie en tubes fermés, et que la température avait

Queste differenze fanno sì che si presti meno a delle osservazioni di quelle delle quali parlerò concernenti l'azione dell'ossigeno. Ciò è dovuto al fatto che il microbo del carbonchio, sotto forma di filamenti, muore velocemente nel tubo chiuso al riparo del contatto con l'aria. Possiamo spostare la difficoltà e mettere ancora in evidenza l'influenza dell'aria sulla virulenza del microbo carbonchioso con il seguente artificio: supponiamo, per fissare le idee, di inseminare un brodo e di distribuirlo in tubi chiusi che metteremo, in seguito, a 42-43°, e che muoia nei tubi in 6 giorni, potremo prepararne un terzo che sarà distribuito in seguito, in tubi chiusi, e nei quali la semenza sarà presa dalla coltura al 5° giorno e così di seguito. Nello stesso tempo che si procede a questa serie di colture successivamente messe al riparo dall'aria, si preparano delle colture parallele in flaconi, a contatto con l'aria.

Compariamo dunque le virulenze dei tubi chiusi con le virulenze delle colture degli stessi giorni che erano state esposte a contatto dell'aria. Si constata che le virulenze delle colture esposte all'aria sono sempre più attenuate e non possono far morire le cavie, invece quelli delle colture in tubi chiusi li fanno perire.⁴

L'azione dell'ossigeno dell'aria nell'attenuazione del microbo carbonchioso è incontestabile così come per il microbo del colera dei polli. L'influenza dell'ossigeno per l'attenuazione del microbo

⁴ Il 6 aprile 1881, viene distribuito in tubi chiusi un brodo inseminato di *bacilli dell'antrace* virulenti; una parte del brodo è messa in coltura all'aria. L'11 aprile, i tubi chiusi non coltivano più: il bacillo è morto, ridotto in granelli senza vita. Si semina la coltura del 10, cioè la coltura della vigilia, in un brodo distribuito in tubi, chiusi in seguito con la fiamma. Si fa anche una coltura a contatto dell'aria. Il 16 aprile, i tubi chiusi non coltivano più; si semina la coltura in tubi chiusi e anche in un flacone a contatto con l'aria. Il 23 aprile, i tubi chiusi non coltivano più. Si continuano queste colture più o meno con lo stesso metodo. Il 7 maggio si inoculano a delle cavie le colture del tubo chiuso il 21 aprile e di un tubo chiuso il 28 aprile ed uno chiuso il 29 aprile. Nello stesso tempo, si inoculano a delle cavie la coltura a contatto dell'aria dei flaconi degli stessi giorni 21, 28, 29 aprile. Il 12 maggio, si trovano le cavie delle colture in tubi chiusi, morte, mentre quelle delle colture in flaconi aperti stanno benissimo, e così puri i giorni seguenti. Per un virus carbonchioso virulento, la morte delle cavie arriva in 48 ore, tre giorni al massimo. Nell'esempio citato essa arriva il quinto giorno; è la prova che la virulenza si è un po' indebolita nei tubi chiusi, e che la temperatura ha contribuito, in qualche modo, all'attenuazione. Altre volte la parte principale ritorna all'ossigeno. Il Dr. Buchner (*) ha annunciato che il *bacillo dell'antrace* può trasformarsi, con colture successive, in *bacillo da fieno*. Ho fatto 130 colture successive nell'umore acquoso dell'occhio, senza aver mai visto tracce di questa trasformazione. Ma l'azione dell'ossigeno dell'aria, come si può pensare, ha provocato un'attenuazione molto lenta della virulenza, piuttosto difficile da riconoscere. Essa è sfuggita al dott. Koch, così come le modificazioni morfologiche del microbo, modificazioni deboli ma assai pronunciate perché alla lunga non formi più i vermi. Il dottor Koch non ha capito che, per apprezzare le piccole diminuzioni di virulenza, non bisogna indirizzarsi unicamente a dei topi o a delle cavie, ma a degli animali più refrattari. Una folla di individui di una data razza saranno uccisi più o meno nelle stesse condizioni e nello stesso tempo da colture successive con virulenze diverse. (Vedere, a questo punto, la nota di p. 675 dei *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, XCI, 1880) [nota 1 della p. 325 del presente volume].

*BUCHNER, Ueber die experimentelle Erzeugung des Milzbrandcontagiums aus den Heupilzen. *München*, 1880, in-8°. (Nota dell'Edizione).

charbonneux se traduit encore par une particularité remarquable. On sait que M. Toussaint (1) a annoncé l'atténuation de ce microbe par le seul effet de la chaleur, et qu'on peut avoir par ce moyen des bactériidies vaccinales ; mais nous avons reconnu que ces bactériidies ne gardent pas dans leurs cultures leur atténuation d'origine. Déjà la première culture du sang chauffé redevient virulente et mortelle. Les bactériidies atténuées par l'oxygène conservent, au contraire, leur atténuation dans leurs cultures.

— Cette différence a une grande importance, et c'est à elle en partie qu'il faut attribuer la difficulté d'obtenir des vaccins charbonneux pratiquement utilisables par la méthode de M. Toussaint. Nous ne partageons pas du tout l'opinion contraire émise récemment par M. Chauveau dans une Note présentée à l'Académie des sciences (2). D'autre part, il n'y a rien de moins sûr et régulier, quelque précaution qu'on prenne, que l'effet de la chaleur sur du sang charbonneux, même lorsqu'elle s'exerce en petite épaisseur et à température fixe.

L'objet principal de la Communication que j'ai l'honneur de vous faire est de fournir de nouveaux exemples d'atténuation par l'oxygène de l'air et de démontrer que nous avons affaire à une méthode générale d'atténuation de certains virus. Je commence par un microbe qui s'est montré pour la première fois dans une circonstance aussi intéressante que curieuse.

J'ai eu également pour collaborateurs, dans les études dont je vais vous parler, MM. Chamberland et Roux, et en outre, et plus particulièrement, M. Thuillier. C'est en leur nom et au mien que je parle.

Il n'a dû contribuer en quelque chose à l'atténuation. Toutefois, la grande et principale part revient à l'oxygène.

Le Dr Buchner (*) a annoncé que le *bacillus anthracis* peut se transformer par cultures successives en *bacillus du foin*, à voile chagriné. J'ai fait 130 cultures successives en humeur aqueuse de l'œil, sans jamais avoir vu trace de cette transformation. Mais l'action de l'oxygène de l'air, comme on peut le penser, a provoqué une atténuation très lente de la virulence, assez difficile à reconnaître. Elle a échappé au Dr Koch, ainsi que les modifications morphologiques du microbe, modifications faibles, mais néanmoins assez prononcées pour qu'à la longue il ne forme plus de germes. Le Dr Koch n'a pas compris que, pour apprécier de très petites diminutions de virulence, il ne faut pas s'adresser uniquement à des souris ou à des cobayes, mais à des animaux plus réfractaires. Une foule d'individus d'une race donnée seront tués à peu près dans les mêmes conditions et le même temps par des cultures successives pouvant avoir cependant des virulences diverses. (Voir sur ce point également la note de la page 675 des *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, XCI, 1880) [note 1 de la p. 325 du présent volume].

1. TOUSSAINT. *Loc. cit.*, p. 340 du présent volume, note 1.

2. CHAUVEAU. *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, XCIV, 1882, p. 1694-1698. (Notes de l'Édition.)

* BUCHNER. Ueber die experimentelle Erzeugung des Milzbrandcontagiums aus den Heupilzen. *München*, 1880, in-8°. (Note de l'Édition.)

carbonchioso si traduce ancora per una particolarità rimarcabile. Si sa che M. Toussaint⁵ ha annunciato l'attenuazione di questo microbo con il solo effetto del calore, e che si possono avere, con questo mezzo, dei batteri vaccinali; ma abbiamo riconosciuto che questi batteri non conservano, nelle loro colture, le attenuazioni originarie. Già la prima coltura di sangue riscaldato riacquista la virulenza e la mortalità.

I batteri attenuati dall'ossigeno conservano, al contrario, la loro attenuazione nelle loro colture.

Questa differenza ha una grande importanza, ed è, in parte, a questa, che bisogna attribuire la difficoltà di ottenere dei vaccini carbonchiosi praticamente utilizzabili con il metodo di M. Toussaint.

Noi non condividiamo del tutto l'opinione contraria espressa di recente da M. Chauveau in una Nota presentata all'Accademia delle Scienze⁶. D'altra parte, non c'è niente di meno sicuro e regolare, qualsiasi precauzione si prenda, che l'effetto del calore sul sangue carbonchioso, anche quando si esercita a bassa densità e a temperatura fissa.

L'oggetto principale della Comunicazione che ho l'onore di farvi è di fornire dei nuovi esempi di attenuazione tramite l'ossigeno dell'aria e di dimostrare che abbiamo a che fare con un metodo generale d'attenuazione di certi virus. Comincio con un microbo che s'è mostrato per la prima volta in una circostanza tanto interessante quanto curiosa.

Ho avuto, anche, per collaboratori, negli studi dei quali vi parlerò, MM. Chamberland e Roux, e inoltre, ed in particolare, M. Thuillier. È a loro e mio nome che parlo.

⁵ TOUSSAINT, *loc. cit.*, p. 340 del presente volume, nota 1.

⁶ CHAUVEAU, *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, XCIV, 1882, pp. 1694-1698. (*Nota dell'Edizione*).

Le 10 décembre 1880, je fus convié par M. le docteur Lannelongue, chirurgien de l'hôpital Sainte-Eugénie, à visiter un pauvre enfant de cinq ans, atteint d'hydrophobie (1). Il avait été mordu au visage un mois auparavant par un chien enragé. Quatre heures après sa mort, qui arriva le 11 décembre, nous avons inoculé deux lapins avec des mucosités du palais, délayées dans l'eau. Les lapins périrent en moins de trente-six heures. Dans leur sang, nous reconnûmes un microbe spécial, cultivable à l'état de pureté et dont les cultures successives donnaient la mort aux lapins, toujours avec présence du même microbe dans le sang.

Les lésions cadavériques consistent dans une dilatation partielle du système veineux, dans un gonflement et une rougeur lie de vin des ganglions de l'aîne, des aisselles, de la trachée. Celle-ci est toujours hémorrhagique. Un peu de salive mouille les lèvres et s'écoule de leurs commissures. Les poumons, généralement œdémateux, sont quelquefois hépatisés. Au point d'inoculation, faite sous la peau de l'abdomen, dans le tissu cellulaire, celui-ci est légèrement œdémateux et emphysemateux.

Dans une expérience où on a cherché l'instant de l'apparition de l'organisme virulent dans le sang, on a vu que, neuf heures après l'inoculation, le sang ensemencé cultivait le microbe de la maladie, sans que celui-ci fût encore apparent au microscope; que, douze heures après l'inoculation, on le rencontrait à l'aide de cet instrument. La fièvre a apparu en même temps que le microbe s'est montré. La mort arriva après trente-cinq heures d'inoculation. La température ne descendit au-dessous de 40° que deux heures avant la mort. L'animal pesait 1 kil. 920 au moment de l'inoculation; 1 kil. 730 au moment de la mort. Diminution de 190 grammes en trente-cinq heures.

La salive des lapins morts transmet invariablement la maladie à de nouveaux lapins.

Les cobayes adultes supportent parfaitement l'inoculation de ce microbe, mais il tue en deux ou trois jours les cobayes de quelques jours d'âge. En poursuivant les inoculations de cobayes à cobayes jeunes, la virulence s'exalte et on arrive facilement à tuer des cobayes de un, deux, trois, quatre mois... Chez les premiers cobayes, le tissu cellulaire autour du point d'inoculation offre un œdème baigné de sérosité sanguinolente et souvent épaisse et gélatiniforme; les muscles sous-jacents sont lardacés, purulents, épaissis. Il est remarquable

1. Voir, p. 559-566 du présent volume : Sur une maladie nouvelle provoquée par la salive d'un enfant mort de la rage. (Note de l'Édition.)

Il 10 dicembre 1880, fui convocato dal dottor M. Lannelongue, chirurgo dell'ospedale Sainte-Eugenie, a visitare un povero bambino di cinque anni, malato di idrofobia⁷.

Era stato morso al viso, un mese prima, da un cane rabbioso. Quattro ore dopo la sua morte, l'11 dicembre, abbiamo inoculato due conigli con mucosità al palato, diluite nell'acqua. I conigli morirono in meno di 36 ore. Riconoscemmo, nel loro sangue, un microbo speciale, coltivabile allo stato puro e le cui colture successive uccidono i conigli, sempre in presenza dello stesso microbo nel sangue. Le lesioni cadaveriche consistono in una dilatazione parziale del sistema venoso, in un rigonfiamento e rossore rosso violaceo delle ghiandole dell'inguine delle ascelle e della trachea. Questa è sempre emorragica, un po' di saliva bagna le labbra e cola negli angoli. I polmoni, generalmente edematosi, sono, a volte, epatici. Il punto di inoculazione sotto la pelle dell'addome, nel tessuto cellulare, è leggermente edematoso ed enfisematoso.

In un'esperienza nella quale abbiamo cercato l'istante in cui è apparso l'organismo virulento nel sangue, si è visto che, nove ore dopo l'inoculazione, il sangue inseminato coltivava il microbo della malattia, senza che questo fosse ancora visibile al microscopio, e che dodici ore dopo l'inoculazione, lo vedremo con l'aiuto di questo strumento. La febbre è comparsa nello stesso momento in cui il microbo si è mostrato. La morte sopravviene dopo 35 ore dall'inoculazione. La temperatura scende sotto i 40° solo due ore prima della morte. L'animale pesava 1 kgr. e 920 al momento dell'inoculazione; 1 kgr. e 730 al momento della morte. Diminuzione di 190 grammi in 35 ore. La saliva dei conigli morti trasmette invariabilmente la malattia a dei nuovi conigli. Le cavie adulte sopportano perfettamente l'inoculazione di questo microbo; uccide invece le cavie di qualche giorno di vita in due o tre giorni. Continuando le inoculazioni di cavie in giovani cavie, la virulenza si esalta e si arriva facilmente a uccidere delle cavie di uno, due, tre, quattro mesi... Nelle prime cavie il tessuto cellulare attorno al punto di inoculazione procura un edema sieroso e sanguinolento, sovente spesso e gelatinoso; i muscoli sottostanti sono lordosi, purulenti e ispessiti. È rimarchevole

⁷ Vedere pp. 559-566 del presente volume: *Sur une maladie nouvelle provoquée par la salive d'un enfant mort de la rage. (Nota dell'Edizione).*

qu'à mesure que s'élève le numéro d'ordre de l'animal inoculé dans des inoculations successives, les lésions changent de caractère. La dégénérescence gélatineuse des tissus cellulaires, la purulence des muscles sous-jacents, disparaissent pour être remplacées par une forte rougeur de ces muscles. Dans ces conditions spéciales d'exaltation de la virulence, on croirait voir un cobaye mort de septicémie aiguë. L'organisme microscopique se trouve abondamment dans les muscles, assez rarement au contraire dans le sang et souvent en si petite quantité qu'il n'y est pas toujours visible au microscope. Il y a comme un changement d'habitat du microbe par suite de l'augmentation de la virulence (1). Ici se présente une circonstance fort digne d'intérêt : lorsque le microbe a été accru de virulence par passages à travers des cobayes, il se montre au contraire moins efficace si on vient à le reporter sur des lapins. Ce n'est pas le seul microbe qui se comporte ainsi.

Nous avons fait connaître l'existence de ce microbe à l'Académie de médecine de Paris, le 18 janvier 1881 (2).

On vit bien alors tous les services que la microbie peut rendre à la médecine étiologique. En même temps que nous faisons l'étude de ce microbe pathogène, M. le docteur Maurice Raynaud, de très regrettée mémoire, se livrait également de son côté, avec M. le docteur Lannelongue (3), à des expériences de contagion aux lapins de la salive de l'enfant hydrophobe de Sainte-Eugénie. Comme nous, il obtenait la mort des sujets inoculés ; mais, tout entier à l'observation clinique, laissant de côté l'action possible des microbes qui auraient pu s'introduire dans le corps des lapins en même temps que le virus rabique, il concluait que c'était la rage qu'il communiquait aux lapins. « Jusqu'à preuve du contraire, disait-il, nous croyons que c'est bien de la rage que sont morts nos lapins. »

1. Le Dr Köchl et ses élèves (*Recueil des travaux de l'Office sanitaire allemand [Mittheilungen aus dem kais. Gesundheitsamte]*, Berlin, 1881), sur la foi d'expériences mal dirigées, méconnaissent le fait de virulence progressive (*), indiqué d'abord par MM. Coze et Feltz (**) et mis plus tard en pleine lumière par le Dr Davaine (***) dans un cas particulier. Par nombre de nos expériences sur les conditions de l'atténuation et du retour à la virulence, on sait aujourd'hui non seulement que MM. Coze, Feltz et Davaine ont vu juste, mais que le cas particulier qu'ils ont étudié est loin d'être isolé. (*Note de Pasteur*).

2. Voir p. 557-558 du présent volume.

3. RAYNAUD et LANNELONGUE. Recherches expérimentales sur la transmission du virus rabique de l'homme au lapin. *Bulletin de l'Académie de médecine*, 2^e sér., X, 1881, p. 61-71. (*Notes de l'Édition*).

* GAFFKY. Experimentell erzeugte Septicämie mit Rücksicht auf progressive Virulenz und accommodative Züchtung. *Ibid.*, I, 1881, p. 80-133.

** COZE et FELTZ. Recherches expérimentales sur la présence des infusoires et l'état du sang dans les maladies infectieuses (1 Mémoires). *Strasbourg*, 1866-1869, in-8^o.

*** DAVAINÉ. Recherches sur quelques questions relatives à la septicémie. *Bulletin de l'Académie de médecine*, séance du 17 septembre 1872, 2^e sér., I, p. 907-920. (*Notes de l'Édition*).

che più si innalza il numero di animali inoculati nelle inoculazioni successive, più le lesioni cambiano carattere. La degenerazione gelatinosa dei tessuti cellulari, la purulenza dei muscoli sottostanti, spariscono per essere rimpiazzati da un forte rossore di questi muscoli. In queste speciali condizioni di esaltazione della virulenza, si è creduto di vedere una cavia morta di setticemia acuta. Il microscopico organismo si trova abbondantemente nei muscoli, assai raramente nel sangue, e, spesso, in così piccole quantità da non esser sempre visibile al microscopio. Vi è come un cambiamento di habitat del microbo in seguito all'aumento della virulenza⁸. Si presenta qui una circostanza veramente degna di interesse: quando il microbo è aumentato in virulenza attraverso il passaggio tra le cavie, si mostra, al contrario, meno efficace se si riporta nei conigli. Non è il solo microbo che si comporta così.

Abbiamo fatto conoscere l'esistenza di questo microbo all'Accademia di Medicina di Parigi, il 18 gennaio 1881⁹.

Si vede bene, allora il servizio che lo studio dei microbi può rendere alla medicina eziologia. Mentre noi facevamo lo studio di questo microbo patogeno il dottor Maurice Raynaud, purtroppo dimenticato, si dedicava accanto al dottor Lannelongue¹⁰, a delle esperienze di contagio dei conigli attraverso la saliva del bambino idrofobo di Sainte-Eugénie. Come anche noi, egli ottiene la morte dei soggetti inoculati; ma dedicandosi interamente all'osservazione clinica, lasciando da parte la possibile azione dei microbi che avrebbero potuto introdursi nel corpo dei conigli contemporaneamente al virus rabbico, la conclusione è che la rabbia a venir trasmessa ai conigli.

“Sino a prova contraria, noi crediamo che i nostri conigli siano morti di rabbia”.

⁸ Il dottor Koch e i suoi allievi (*Recueil des travaux de l'Office sanitaire allemand [Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte]*, Berlino, 1881) sulla fede in esperienze mal dirette, disconoscendo la virulenza progressiva (*) indicata inizialmente da MM. Coze e Feltz (**) e messa più tardi in piena luce dal dottor Davaine (***) in un caso particolare. Dal numero delle nostre esperienze sulla virulenza, sappiamo oggi non solo che MM. Coze, Feltz e Davaine avevano visto giusto ma che il caso particolare che hanno studiato non è isolato (Nota di Pasteur).

*GAFFKY, Experimentell erzeugte Septicämie mit Rücksicht auf progressive Virulenz und accomodative Züchtung, I, 1881, pp. 80-133.

**COZE e FELTZ, Recherches expérimentales sur la présence des infusoires et l'état du sang les maladies infectieuses, (4 Memorie). Strasburgo 1866-1869, in 8°.

***DAVAINE, Recherches sur quelques questions relatives à la septicémie. *Bulletin de l'Académie de médecine*, 17 settembre 1872, 2ª serie, I, pp. 907-920. (Nota dell'Edizione).

⁹ Vedere pp. 557-558 del presente volume.

¹⁰ RAYNAUD e LANNELONGUE. Recherches expérimentales sur la transmission du virus rabique de l'homme au lapin. *Bulletin de l'Académie de médecine*, 2ª serie, X, 1881, pp. 61-71. (Nota dell'Edizione).

M. Galtier a annoncé qu'il avait transmis la rage du chien au lapin et a donné dix-huit jours comme moyenne de la durée d'incubation (1). Les lapins de M. Maurice Raynaud mouraient beaucoup plus vite : la moyenne de la durée entre l'instant de l'inoculation et la mort n'était que de quarante-cinq heures. Cette différence n'était pas faite pour arrêter la conclusion de M. Maurice Raynaud. Comme dans ses expériences il s'agissait de la transmission de la rage, non du chien, mais de l'homme, au lapin, il attribuait la différence des durées d'incubation à cette circonstance. Déjà antérieurement, le 27 octobre 1879, M. Maurice Raynaud annonçait avoir, par des inoculations de salive, transmis la rage de l'homme aux lapins (2). Cette première conclusion n'était pas plus exacte que celle que je viens de rappeler. Ce n'est pas qu'il ne soit très facile de communiquer la rage de l'homme, soit au chien, soit au lapin — nous l'avons fait souvent — mais, déjà à cette époque, M. Maurice Raynaud n'avait eu entre les mains, à son insu, que des lapins morts du nouveau microbe.

Toutefois, si la mort rapide des lapins, dans ces diverses expériences, était due à un microbe tout nouveau, on pouvait se demander si le microbe n'avait pas quelque relation cachée avec le véritable microbe de la rage. N'était-ce pas une circonstance étrange que cette salivation chez nos lapins et la facile provocation de la maladie et de la mort par leur salive inoculée à de nouveaux lapins ?

En outre, n'était-il pas très intéressant de rechercher si l'on retrouverait cette même virulence de la salive de l'enfant mort hydrophobe à Sainte-Eugénie chez d'autres salives d'enragés ? L'occasion se présenta bientôt de lever ces doutes.

Le 23 février 1881, M. Percheron, vétérinaire, me signala une enfant de six ans, présentant tous les symptômes de la rage. Elle avait été, elle aussi, mordue un mois auparavant au visage par un chien enragé. Sa mort arriva ce même jour, 23 février, à quatre heures du soir. Le lendemain, 24 février, on recueillit un peu de mucus salivaire et on en inocula deux lapins, l'un sous l'abdomen, par la seringue Pravaz ; l'autre à la face, par la lancette. Ce dernier n'éprouva rien. Le premier mourut après trois jours. Son sang offrait en abondance notre nouveau microbe, avec sa virulence habituelle.

Au même moment, un ouvrier forgeron, âgé de quarante-neuf ans,

1. GALTIER. Sur la transmissibilité de la rage du chien au lapin. *Bulletin de l'Académie de médecine*, 2^e sér., X, 1881, p. 90-94.

2. RAYNAUD (M.). Sur la transmissibilité de la rage de l'homme au lapin. *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 27 octobre 1879, LXXXIX, p. 714-716, et *Bulletin de l'Académie de médecine*, 4 novembre 1879, 2^e sér., VIII, p. 1114-1115. (*Notes de l'Édition.*)

M. Galtier ha annunciato di aver trasmesso la rabbia dal cane al coniglio, dandogli 18 giorni di vita come media dalla durata dell'inoculazione¹¹. I conigli di M. Maurice Raynaud morirono molto più in fretta: la durata media tra l'istante dell'inoculazione e la morte non era più di 45 ore. Questa differenza non era fatta per fermare la conclusione di M. Maurice Raynaud. Come nelle sue esperienze, si trattava della trasmissione della rabbia non dal cane, ma dall'uomo, al coniglio, egli attribuiva la differenza della durata dell'incubazione a questa circostanza. Già precedentemente, il 27 ottobre 1879, M. Maurice Raynaud annunciava di avere, attraverso delle inoculazioni di saliva, trasmesso la rabbia dell'uomo ai conigli¹². Questa prima conclusione non era più esatta di quella che ho appena ricordato. Non dovrebbe essere molto facile trasmettere la rabbia dell'uomo sia ai cani sia ai conigli – noi l'abbiamo fatto spesso – ma, già a quest'epoca, M. Maurice Raynaud non aveva avuto, tra le mani, a sua insaputa, che dei conigli morti a causa del nuovo microbo.

Anche se la morte repentina dei conigli, in diverse esperienze, fosse dovuta a un microbo totalmente nuovo, ci si poteva domandare se il microbo non avesse qualche relazione nascosta con il vero microbo della rabbia.

Non era una circostanza strana questa salivazione dei nostri conigli e la facile provocazione della malattia e della morte a causa della loro saliva inoculata a nuovi conigli?

Inoltre, non era interessante cercare se non si trovi questa stessa virulenza della saliva del bambino morto idrofobo a Sainte-Eugénie presso altre salive straniere?

L'occasione di togliersi i dubbi arriverà presto.

Il 23 febbraio 1881, M. Percheron, veterinario, mi segnala una bambina di 6 anni con i sintomi della rabbia. Era stata, anche lei, morsa un mese prima, al viso, da un cane rabbioso. La sua morte avviene quello stesso giorno, 23 febbraio, alle 4 di pomeriggio. Il giorno dopo, 24 febbraio, viene raccolto un po' di muco salivare per inoculare due conigli, uno sotto l'addome, con la siringa di Pravaz; l'altro in faccia con la lancetta. Quest'ultimo non sente niente e non si ammala. Il primo muore dopo tre giorni. Il suo sangue presenta abbondantemente il nuovo microbo con l'abituale virulenza.

Nello stesso momento un operaio di 49 anni,

¹¹ GALTIER, Sur la transmissibilité de la rage du chien au lapin. *Bulletin de l'Académie de médecine*, 2^a serie, X, 1881, pp. 90-94.

¹² RAYNAUD (M.), Sur la transmissibilité de la rage de l'homme au lapin. *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 27 ottobre 1879, LXXXIX, pp. 714-716 e *Bulletin de l'Académie de médecine*, 4 novembre 1879, 2^a serie, VIII, pp. 1114-1115. (*Note dell'Edizione*).

mordu par un chien enragé, quatre mois et demi auparavant, mourut le 22 février, à la Pitié, dans le service de M. Brouardel. Une heure et demie après sa mort, on inocula plusieurs lapins avec la salive de la bouche et le mucus du palais. D'autres lapins avaient été déjà inoculés par la salive, mais prise avant la mort, la veille et quelques heures auparavant, par MM. Brouardel et Dujardin-Beaumetz. Grâce à l'obligeance de ces savants médecins, je pus m'assurer que, non seulement les lapins que j'avais inoculés, mais quelques-uns de ceux qui leur avaient servi étaient morts par le même microbe qui nous occupe.

Une étude attentive et prolongée des effets de l'inoculation de la salive rabique humaine à des lapins permet de constater trois genres de mort :

La mort par le nouveau microbe ;

La mort par des désordres purulents très abondants, avec décollements de la peau ; accidents d'ordre septique ;

Enfin la mort par la vraie rage propre au lapin. Celle-ci a toujours une incubation assez longue et s'accuse invariablement par des paralysies des membres qui durent vingt-quatre, quarante-huit, soixante-douze heures avant la mort. L'aptitude à mordre n'existe jamais, pour ainsi dire dans la rage du lapin. J'en ai vu cependant un exemple, mais un seul, sur des centaines de cas.

La mort par les désordres purulents peut arriver en quelques jours, comme en plusieurs semaines. Dans ce cas, il est rare qu'il y ait paralysie.

La mort par le nouveau microbe est toujours rapide, à moins qu'il n'y ait des complications purulentes, auquel cas la mort peut être retardée de plusieurs jours.

En résumé, la salive de personnes enragées contient, outre le virus rabique non caractérisé encore par un microbe cultivable, un virus formé par un microbe spécial, qu'on peut cultiver facilement, et des microbes divers capables d'amener la mort par des productions exagérées de pus, des désordres locaux excessifs et quelquefois l'introduction dans le sang de microbes communs.

Dans la salive des enfants morts de la rage, le nouveau microbe paraît assez fréquent et abondant pour amener la mort des lapins avec plus de rapidité que ne le feraient le virus rabique ou les microbes auteurs des désordres purulents et putrides (1).

1. Voir, p. 559-566 du présent volume : Sur une maladie nouvelle provoquée par la salive d'un enfant mort de la rage. *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, séance du 24 janvier 1881, XCII, p. 159-165. (Note de l'Édition.)

morso da un cane rabbioso quattro mesi e mezzo prima, muore il 22 febbraio alla Pitié, nel reparto di M. Brouardel. Un'ora e mezza dopo la sua morte vengono inoculati diversi conigli con la saliva della bocca ed il muco del palato. MM. Brouardel e Dujardin-Beaumetz avevano già inoculato dei conigli, qualche ora prima, con la saliva presa prima della morte. Grazie alla cortesia di questi sapienti medici posso assicurarmi che non solo i conigli che avevo inoculato, ma qualcuno dei loro erano morti a causa dello stesso microbo. Uno studio attento e prolungato degli effetti dell'inoculazione della saliva rabbica umana a dei conigli permette di constatare tre generi di morte:

La morte dovuta al nuovo microbo;

la morte a causa dei disordini purulenti molto abbondanti con scollamento della pelle e casi di ordine settico;

infine, la morte causata dalla vera rabbia dei conigli. Questa ha sempre un'incubazione molto lunga e si accusa invariabilmente con la paralisi delle membra che dura ventiquattro, quarantotto, settantadue ore prima della morte. Non vi è mai attitudine a mordere nella rabbia dei conigli. Ne ho visto un unico esempio su centinaia di casi.

La morte dovuta ai disordini purulenti può arrivare in qualche giorno come in più settimane. In questo caso le paralisi sono rare.

La morte dovuta al nuovo microbo è sempre rapida, salvo complicazioni purulente, nel qual caso la morte può essere ritardata di più giorni.

Riassumendo, la saliva delle persone rabbiose contiene, oltre al virus rabbico non ancora caratterizzato da un microbo coltivabile, un virus formato da un microbo speciale, facilmente coltivabile, e diversi microbi capaci di dare la morte con una esagerata produzione di pus, di eccessivi disordini locali e, qualche volta, l'introduzione, nel sangue di comuni microbi.

Nella saliva dei bambini morti di rabbia, il nuovo microbo pare assai frequente ed abbondante da condurre i conigli alla morte con rapidità maggiore che con il virus rabbico o i microbi autori dei disordini purulenti e putridi¹³.

¹³ Vedere pp. 559-566 del presente volume: Sur une maladie nouvelle provoquée par la salive d'un enfant mort de la rage, *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, seduta del 24 gennaio 1881, XCII, pp. 159-165. (Nota dell'Edizione).

Le nouveau microbe découvert dans les salives des personnes atteintes d'hydrophobie n'existe-il que dans cette sorte de salive? Cette question s'offrait naturellement à l'esprit. C'était même la première à résoudre si l'on voulait s'assurer d'une relation cachée entre ce microbe et celui de la rage. Au cas où le nouveau microbe existerait dans des salives quelconques, il est évident qu'il serait indépendant du virus rabique.

Des observations auxquelles nous nous sommes livrés, il est résulté que la salive des personnes adultes, mortes de maladies diverses, ne contenait pas le nouveau microbe, ou plutôt qu'il a été masqué dans nos expériences par l'abondance des microbes propres à faire du pus; qu'au contraire, la salive d'enfants morts de maladies diverses a amené la mort des lapins par le microbe dont il s'agit, qu'enfin on l'a retrouvé encore dans des salives de personnes en pleine santé (1).

Le microbe de la salive dont je viens de vous entretenir est le troisième microbe virulent dont nous avons essayé l'atténuation par l'action de l'oxygène de l'air. Je désire vous la présenter : elle est encore inédite et fort intéressante; par divers détails de son histoire. Vous savez déjà ce qui arrive aux cultures du microbe du choléra des poules quand on passe d'une culture à celle qui la suit, sans mettre entre ces cultures un long intervalle. La virulence de la deuxième culture reproduit la virulence de la première sans changement appréciable, et il en est ainsi des cultures successives. Ce n'est que quand on laisse s'écouler un temps plus ou moins long entre deux cultures consécutives qu'on observe une diminution dans la virulence. En d'autres termes, il semble que l'oxygène de l'air n'a d'influence pour atténuer une culture que si celle-ci est achevée. Tant que l'oxygène est employé à la vie, aux actes de la nutrition du microbe, son influence atténuante ne s'exerce pas d'une manière sensible. Elle n'est pas tout à fait nulle, mais elle échappe à des observations ordinaires.

Notre microbe de la salive se comporte comme le microbe du choléra des poules. Si on fait se succéder ses cultures de douze en douze heures, on retrouve dans toutes les cultures la même virulence, c'est-à-dire que, si nous prenons le lapin pour criterium de la virulence, ces

1. Le nouveau microbe n'a donc aucune relation avec le virus rabique. Par les détails dans lesquels je suis entré, on voit assez que ce n'était pas chose facile de se mouvoir sans faillir dans tous les faits que le texte ci-dessus élucide. J'oserais dire que jamais, dans mes recherches antérieures, je n'avais poussé plus loin le respect des principes de la méthode expérimentale.

Chose étrange néanmoins, on m'a fait dire, notamment le recueil allemand déjà cité, que le microbe de la rage n'était autre que notre microbe de la salive. C'est là une assertion toute gratuite : c'est le contraire que nous avons établi.

Viene da porsi la domanda: Il nuovo microbo scoperto nella saliva di persone idrofobe esiste solo in questa saliva? Nel caso in cui il nuovo microbo esistesse in una saliva qualunque, è evidente che sarebbe indipendente dal virus rabbico.

Da alcune nostre osservazioni è risultato che la saliva di persone adulte, morte di diverse malattie, non conteneva il nuovo microbo, o questo è stato nascosto alle nostre esperienze dall'abbondanza di microbi facenti del pus; che, al contrario, la saliva di bambini morti di diverse malattie ha portato la morte ai conigli attraverso il microbo di cui si parla, il quale è, infine, stato ritrovato nella saliva di persone in piena salute¹⁴.

Il microbo della saliva del quale parlo è il terzo microbo virulento del quale abbiamo cercato l'attenuazione con l'azione dell'ossigeno dell'aria. Desidero presentarvelo: è ancora sconosciuto e molto interessante per alcuni dettagli della sua storia. Sapete già cosa succede alle colture dei microbi del colera dei polli quando si passa da una coltura a quella seguente, senza far passare un lungo lasso di tempo tra l'una e l'altra. La virulenza della seconda coltura riproduce la virulenza della prima senza cambiamenti rilevanti e lo stesso dicasi per le successive colture. Si osserva una diminuzione della virulenza solo quando si lascia passare un tempo più o meno lungo tra due colture consecutive. In altri termini, sembra che l'ossigeno dell'aria non abbia alcuna influenza per attenuare una coltura finita. La sua influenza, pur non essendo nulla, scappa a delle osservazioni ordinarie. Il nostro microbo della saliva si comporta come il microbo del colera dei polli. Se si succedono le colture ogni 12 ore si ritrova in tutte la stessa virulenza, cioè se noi prendiamo il coniglio, per il criterio della virulenza questi

¹⁴ Il nuovo microbo non ha dunque alcuna relazione con il virus rabbico. Con i dettagli che ho dato, si vede bene che non è facile muoversi senza fallire. Oserei dire che, nelle mie ricerche precedenti, non avevo mai spinto più lontano il rispetto dei principi del metodo sperimentale. Mi si è fatto stranamente dire, nella Raccolta tedesca già citata, che il microbo della rabbia non è altro che il microbo della saliva. È un'asserzione completamente gratuita: ciò che abbiamo stabilito è il contrario.

animaux meurent aussi facilement, aussi promptement par les dernières cultures que par les premières.

M. Thuillier a eu la patience de faire dans ces conditions deux séries de quatre-vingts cultures, et la quatre-vingtième tuait les lapins aussi vite que les premières (1). Pour accuser les différences, il eût fallu sacrifier des nombres considérables de lapins ou opérer sur des animaux plus réfractaires au virus.

Si nous comparons maintenant des cultures successives en les laissant séjourner plus ou moins de temps au contact de l'air, avant de passer de l'une à l'autre, par ensemencement, les choses, à certains égards, sont tout autres que pour le choléra des poules. Les cultures périssent très vite. On est tout surpris de voir qu'en essayant d'ensemencer une culture dans un nouveau bouillon, le plus souvent, déjà après deux ou trois jours de la culture mère, il y a stérilité complète, et la mort d'une culture arrive d'autant plus rapidement qu'elle a un numéro d'ordre plus élevé. Une culture ensemencée directement par le sang virulent vit de six à douze ou quinze jours. Si avec cette culture on ensemence une seconde culture, avec celle-ci une troisième et ainsi de suite, on constate une prompte diminution de la durée de la vie et de la virulence des cultures. La huitième vivra trois à quatre jours quand la douzième vivra trente heures, la vingt-cinquième vingt-six heures, la quarante-huitième et les suivantes de vingt à vingt-deux heures environ.

Ces cultures inoculées aux lapins, lorsqu'elles sont à la fin de leur vie, ne les tuent pas toujours, et il est facile alors de constater que parmi les lapins inoculés dans ces conditions beaucoup résistent ensuite à des inoculations virulentes. La maladie ne récidive donc pas, du moins pendant longtemps. Cependant la rapidité avec laquelle meurent les cultures rend très difficile de saisir le moment précis où l'ensemencement de la culture donnera un vaccin convenable. Il faudrait pouvoir allonger beaucoup la durée de la vie des cultures. On y parvient aisément en composant le milieu de culture avec du bouillon et du sang de lapin. Le bouillon qui convient à la culture du microbe est celui de veau. Les bouillons de poulet, de lapin, de bœuf, de mouton y sont impropres. Deux parties de bouillon de veau et une partie de sang pur de lapin donnent, par ensemencement de sang virulent ou d'une culture en bouillon, même d'ordre élevé, des cultures qui ont

1. Une des séries a été faite dans le vide. Ce microbe aérobie est-il également anaérobie? La culture dans le vide ne se fait-elle pas par l'oxygène de l'air fixé sur certaines matières oxydables du bouillon? C'est à voir. Ce qui est certain, c'est que le bouillon de culture se décolore en partie.

animali muoiono molto facilmente, sia per le prime colture che per le ultime.

M. Thuillier ha avuto la pazienza di fare in queste condizioni due serie di 80 colture, e l'80° uccideva i conigli tanto in fretta quanto la prima¹⁵.

Per vedere le differenze si sono dovuti sacrificare numerosi conigli o operare su animali più refrattari al virus. Se confrontiamo adesso colture successive lasciandole stare per più o meno tempo a contatto con l'aria, prima di passare dall'una all'altra per inseminazione, le cose possono sembrare diverse che per il colera dei polli. Le colture morirono in fretta. Siamo sorpresi di vedere che provando a inseminare una coltura in un nuovo brodo, spesso, dopo soli due o tre giorni, dalla coltura madre, c'è una completa sterilità e la morte di una coltura arriva più rapidamente quando il numero d'ordine è più elevato. Una coltura direttamente inseminata dal sangue virulento vive da sei a dodici o quindici giorni. Se con questa coltura se ne insemmina una seconda e con questa una terza, e così di seguito, si constata una pronta diminuzione della durata della vita e della virulenza delle colture. L'8° vivrà da tre a quattro giorni, la 12° vivrà trenta ore, e le successive da venti a ventidue ore circa.

Queste colture alla fine della loro vita, inoculate ai conigli, non sempre gli uccidono, ed è, così, facile constatare che tra questi conigli molti resistono, in seguito, a inoculazioni virulente. La malattia non passa neppure dopo molto tempo.

La rapidità con la quale le colture muoiono rende molto difficile scegliere il momento preciso in cui l'inseminazione della coltura darà un buon vaccino. Bisognerebbe poter allungare di molto la durata della vita delle colture. Ci si arriva tranquillamente componendo il centro della coltura con brodo e sangue di coniglio. Il brodo più adatto alla coltura del microbo è quello di vitello. I brodi di pollo, coniglio, bue, montone, sono impropri. Due parti di brodo di vitello ed una parte di sangue puro di coniglio danno per inseminazione del sangue virulento o di una coltura in brodo, anche di ordine elevato, colture

¹⁵ Una serie è stata fatta nel vuoto. Questo microbo aerobico è anche anaerobico? La coltura nel vuoto si fa con l'ossigeno dell'aria fissato su certe materie ossidabili del brodo? È da vedere. Quello che è certo è che il brodo di coltura si decolora parzialmente.

squ'à quarante ou cinquante jours de durée. Dans les dix derniers jours les cultures de bouillonensemencées avec ce mélange sanguin forment une série de cultures de virulences graduées, toutes vaccinales à divers degrés.

C'est encore l'action de l'oxygène de l'air qui modifie la culture et en atténue progressivement la virulence. La preuve est facile à donner par le moyen qui nous a déjà servi, c'est-à-dire, par la comparaison des cultures faites et conservées au contact de l'air avec celles en tubes fermés ou dans le vide. Tandis qu'une culture faite et conservée à l'air périt en quelques jours en bouillon de veau, la même culture faite et conservée en tube fermé ou dans le vide est encore virulente après trois et quatre mois, peut-être davantage. D'ailleurs, lorsqu'il y a mort en tubes fermés, la virulence se conserve jusqu'au moment de la mort.

Nous voilà donc en possession de trois microbes aérobies qu'on peut atténuer par une même méthode qui se prête en outre à la préparation facile de leurs vaccins : le *microbe du choléra des oiseaux de basse-cour*; le *microbe du charbon*; le *microbe de la salive*, particulièrement de la salive des hydrophobes. Si j'en ajoute un quatrième dans cette Communication, je pense que ce nouvel exemple suffira à vous convaincre, comme je le suis moi-même, qu'une méthode générale rationnelle, nullement empirique, d'atténuation et de préparation de beaucoup de vaccins est trouvée.

Il s'agit encore d'un virus nouveau rencontré pour la première fois dans les conditions suivantes :

L'année 1881 fut marquée à Paris par une épizootie très sérieuse de ce genre d'affection qui est connue sous le nom de *fièvre typhoïde des chevaux*. La seule compagnie des omnibus de Paris a perdu plus de 1.500 chevaux. Nous avons commencé quelques recherches sur cette maladie qui, malheureusement pour nos expériences, n'a pas reparu en 1882.

En inoculant à des lapins la matière écumeuse sortant par les naseaux au moment de la mort d'un cheval atteint de l'affection dont il s'agit, les lapins périrent et leur sang présenta un microbe nouveau, encore en forme de 8, avec un étranglement allongé. Ce microbe communique aux lapins une véritable fièvre typhoïde qui les tue en moins de vingt-quatre heures. Les poumons sont généralement hépatisés avec pleurésie. Les plaques de Peyer sont tuméfiées et quelquefois framboisées et hémorrhagiques. La plaque de la valvule iléo-cæcale est toujours très tuméfiée et plus souvent hémorrhagique que celles de l'intestin. Les reins quelquefois hémorrhagiques. Le foie souvent un peu pâle. L'animal est très rapidement dans un état coma-

della durata di quaranta o cinquanta giorni. Negli ultimi dieci giorni le colture di brodo inseminate con questa mistura di sangue formano una serie di colture di diversa virulenza, tutte utilizzabili, a diversi gradi, come vaccini. È ancora l'azione dell'ossigeno dell'aria che modifica la coltura attenuandone progressivamente la virulenza.

La prova, con i mezzi dei quali ci siamo serviti, è facile a darsi, cioè con il paragone delle colture fatte e conservate a contatto dell'aria con quelle in tubi chiusi o nel vuoto. Come una coltura fatta e conservata all'aria muore in qualche giorno nel brodo di vitello, la stessa coltura fatta e conservata in un tubo chiuso o nel vuoto è ancora virulenta dopo tre o quattro mesi, forse anche più. Quando, al contrario, muore nei tubi chiusi la virulenza si conserva sino al momento della morte.

Eccoci, dunque, in possesso di tre microbi aerobici che si possono attenuare con uno stesso metodo che si presta anche facile alla preparazione dei loro vaccini: *il microbo del colera dei polli*; *il microbo del carbonchio*; *il microbo della saliva*, in particolare della saliva degli idrofobi. Se ne aggiungo un quarto in questa Comunicazione, penso che questo nuovo esempio sarà sufficiente a convincervi, come lo sono io, che un metodo generale razionale, per niente empirico, di attenuazione e di preparazione di molti vaccini è stato trovato.

Si tratta ancora di un nuovo virus incontrato per la prima volta nelle seguenti condizioni:

L'anno 1881, fu marcato, a Parigi da una epizoozia molto grave; quel genere di affezione conosciuta come *febbre tifoide da cavallo*. La sola compagnia degli omnibus di Parigi ha perso più di 1500 cavalli. Noi abbiamo cominciato qualche ricerca su questa malattia ma, purtroppo per le nostre esperienze, non è apparsa nel 1882.

Inoculando a dei conigli la materia schiumosa che usciva dalle narici di un cavallo morto dell'affezione di cui si parla, i conigli morirono ed il loro sangue presentava un nuovo microbo a forma di 8. Questo microbo dà ai conigli una vera febbre tifoidea che gli uccide in meno di 24 ore. I polmoni sono generalmente pleuritici. Le placche di Peyer sono tumefatte e, qualche volta, violacee ed emorragiche. La placca della valvola ileocecale è sempre molto tumefatta e spesso più emorragica di quella dell'intestino. I reni qualche volta emorragici. Il fegato spesso un po' pallido. L'animale è velocemente in uno stato comatoso

teux prononcé. Déjà après quatre heures d'inoculation, la fièvre s'accuse par une élévation de la température de plus de 1°, même quand la mort n'arrive qu'après trente-six heures. Les péritonites sont assez fréquentes (4).

L'atténuation de ce microbe a lieu quand on expose ses cultures dans du bouillon au contact de l'air; mais elle est très difficile à saisir, parce que la période pendant laquelle elle se montre est suivie presque immédiatement par la mort du microbe. En d'autres termes, si l'on fait une culture de ce microbe et qu'on l'abandonne à elle-même au contact de l'air, en essayant chaque jour sa virulence, celle-ci se montre toujours mortelle pour les lapins jusqu'à ce que, tout à coup en quelque sorte, on trouve la culture morte, c'est-à-dire ne pouvant plus se cultiver et sans action aucune sur les animaux. Dans les cultures au contact de l'air, le microbe passe de la virulence à la mort en quinze à trente jours, si on le laisse à 35°. Au contraire, développé à 35° et laissé à la température ambiante, les cultures se conservent vivantes six à huit mois et plus. Dans le vide, les cultures se conservent virulentes au moins un an, soit à l'étuve, soit à la température ordinaire.

Pour arriver à saisir et à fixer l'atténuation, on a eu recours à l'artifice suivant, qui rappelle celui que nous avons employé tout à l'heure pour démontrer que c'est bien à l'oxygène de l'air qu'est due l'atténuation du microbe du charbon à 43°. On fait une culture à l'aide du sang virulent d'un lapin mort et on l'abandonne à elle-même. Chaque jour on l'ensemence dans un nouveau flacon de bouillon, de façon à avoir autant de cultures que de jours de repos de la première culture

1. L'étude de ce quatrième microbe présente un nouvel exemple de changement de virulence pour une race d'animaux après qu'il y a eu acclimatation, si l'on peut ainsi dire, dans une autre race.

En juillet 1881, alors que l'organisme microscopique avait passé par un petit nombre de lapins qu'il ne tuait qu'en deux ou trois jours, les inoculations amenaient la mort des cobayes en cinq ou huit jours. Le point d'inoculation était oedémateux avec un peu de pus au centre; les ganglions tuméfiés et hémorrhagiques; les poumons hépatisés avec pleurésie; les intestins souvent couverts de fausses membranes; quelquefois, péricardite; rate arrondie sur les bords et friable; plaques de Peyer ayant l'aspect de barbe rasée depuis deux jours; le microbe dans le sang.

En juillet 1882, après passage du microbe par beaucoup de lapins, l'inoculation aux cobayes n'amène plus qu'un abcès local, s'ouvrant spontanément et dont le pus, rempli du microbe, amène la mort du lapin en moins de vingt heures. En résumé, par passages nombreux à travers le lapin, le microbe a acquis une virulence plus grande vis-à-vis du lapin, en la perdant vis-à-vis du cobaye. — En juillet 1882, les lapins meurent même par 1/500 de goutte de sang virulent. Ils meurent aussi très facilement par des repas infectieux ou si on les place dans des cages où sont morts d'autres lapins par ce microbe.

Le lecteur remarquera que, dans le texte ci-dessus, je ne décide en rien la question de savoir si le microbe dont je parle, malgré son origine, a une part quelconque à la production de l'affection dite *fièvre typhoïde des chevaux*.

profondo. Già dopo quattro ore di inoculazione si ha un aumento di più di 1° di febbre, anche quando la morte non arriva che dopo 36 ore. Le peritoniti sono assai frequenti¹⁶.

L'attenuazione di questo microbo si verifica quando si espongono le sue colture in un brodo a contatto con dell'aria; ma non è facile da capire in quanto nel periodo in cui si mostra (l'attenuazione) è spesso seguita quasi immediatamente dalla morte del microbo. In altri termini, se si fa una coltura di questo microbo abbandonandola a contatto dell'aria e verificando ogni giorno la sua virulenza, questa si mostra sempre mortale per i conigli sino a quando, in qualche modo, non si trovi la coltura morta, cioè non più coltivabile e senza alcun potere sugli animali. Nelle colture a contatto dell'aria, il microbo passa dalla virulenza alla morte, lasciandolo a 35°, in quindici o trenta giorni. Al contrario, sviluppate a 35° e lasciate a temperatura ambiente, le colture restano in vita da sei a otto e più mesi. Nel vuoto le colture si conservano virulente almeno un anno sia con il vapore sia alla solita temperatura.

Per arrivare a scegliere e fissare l'attenuazione, si fa ricorso al seguente artificio, che somiglia a quello precedentemente utilizzato per dimostrare che è all'ossigeno dell'aria che è dovuta l'attenuazione del microbo del carbonchio a 43°. Si fa una coltura con il sangue virulento di un coniglio morto e la si abbandona a se stessa. Ogni giorno le viene aggiunto un nuovo flacone di brodo in modo da avere altrettante colture con giorni di riposo della prima coltura madre.

¹⁶ Lo studio di questo quarto microbo dà un nuovo esempio di cambiamento della virulenza da una razza di animali ad un'altra, dopo che si è avuta, se così si può dire, acclimatazione. Nel luglio 1881, quando il microscopico organismo era passato in un certo numero di conigli uccidendoli dopo due o tre giorni, le inoculazioni aumentarono la morte delle cavie in cinque o otto giorni. Il punto di inoculazione era edematoso con un po' di pus al centro; i gangli tumefatti ed emorragici; i polmoni epatizzati e con pleure; gli intestini spesso coperti di false membrane; a volte pericarditi; milza arrotondata sui bordi e friabile; placche di Peyer, il microbo nel sangue. Nel luglio 1882, dopo il passaggio del microbo in molti conigli, l'inoculazione alle cavie non porta più che un ascesso locale, aprendosi spontaneamente e facendo fuoriuscire il pus pieno di microbi che porta alla morte del coniglio in meno di venti ore. riassumendo, attraverso numerosi passaggi nel coniglio, il microbo ha acquisito una virulenza maggiore per il coniglio ma minore per la cavia. - Nel luglio 1882, i conigli muoiono anche per 1/500 di goccia di sangue virulento. Muoiono altrettanto facilmente per un pasto infetto o se li si mette in gabbie dove altri conigli sono morti a causa di questo microbo. Il lettore rimarcherà che, nel testo qui sopra, non mi dedico alla questione se il microbo del quale parlo, malgrado la sua origine, abbia una qualsiasi partecipazione alla produzione dell'affezione detta *febbre tifoide dei cavalli*.

mère. Il arrive un moment où la semence prise dans cette culture mère se montre stérile. Arrivé à ce point, on reprend, comme culture mère d'une nouvelle série de cultures quotidiennes, la culture faite la veille de la mort de la première culture mère. La seconde culture mère meurt à son tour; on refait alors une nouvelle série de cultures quotidiennes, en prenant pour culture mère la culture féconde de la veille de la mort de la deuxième culture mère, et ainsi de suite.

Par cette méthode, on finit par avoir des cultures qui n'entraînent plus la mort des lapins et se bornent à provoquer des abcès guérissables, dont le développement est quelquefois énorme. A ce moment, il est facile de constater qu'on a affaire à des cultures vaccinales, c'est-à-dire que les lapins guéris supportent sans accidents les cultures les plus virulentes de l'organisme microscopique de la fièvre typhoïde des lapins. Les cultures vaccinales faites à courts intervalles conservent la virulence vaccinale. La preuve de l'influence de l'oxygène de l'air dans l'atténuation est encore donnée par les cultures dans le vide ou à l'abri de l'air. Elles conservent leur virulence et ne meurent qu'après un temps très long, en manifestant leur virulence jusqu'au moment de la mort des cultures.

En résumé, on ne peut douter que nous possédons une méthode générale d'atténuation, dont l'application doit seulement être modifiée selon les exigences des propriétés physiologiques des divers microbes. Les principes généraux sont trouvés et on ne saurait se refuser à croire que l'avenir, dans cet ordre de recherches, est riche des plus grandes espérances.

Mais, si éclatante que soit la vérité démontrée, elle n'a pas toujours le privilège d'être facilement acceptée. J'ai rencontré en France et à l'étranger des contradicteurs obstinés.

Permettez-moi de choisir parmi eux celui dont le mérite personnel a le plus de droits à notre attention. Je veux parler du docteur Koch, de Berlin. Il y a un an qu'a paru, à Berlin, le *Recueil des travaux de l'Office sanitaire allemand* (1). Mes travaux y sont attaqués avec une étrange vivacité par le docteur Koch et ses élèves (2). On trouve des choses vraiment surprenantes dans certains Mémoires de ce recueil. On y insinue en divers passages que M. Pasteur ne sait pas cultiver les microbes à l'état de pureté; qu'il ne peut savoir si ses travaux sont exempts de causes d'erreurs, parce qu'il ignore la manière de recon-

1. *Mittheilungen aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1881, in-4°.

2. KOCH (R.). Zur Aetiologie des Milzbrandes. *Ibid.*, p. 49-79. — GAFFKY (G.). Experimentell erzeugte Septicämie mit Rücksicht auf progressive Virulenz und accommodative Züchtung. *Ibid.*, p. 80-133. — LÖFFLER (Fr.). Zur Immunitätsfrage. *Ibid.*, p. 134-137. (*Notes de l'Édition*.)

Arriva un momento in cui la semenza presa da questa coltura madre si mostra sterile. Arrivati a questo punto si riprende come coltura madre, una nuova serie di colture quotidiane, la coltura fatta la vigilia della morte della prima coltura madre. La seconda coltura madre muore a sua volta; si rifà allora una nuova serie di colture quotidiane, prendendo come coltura madre la coltura feconda della vigilia della morte della seconda coltura madre, e così via.

Con questo metodo si finisce per avere colture che non portano più alla morte dei conigli portando solo degli accessi guaribili, il cui sviluppo è, qualche volta, enorme. È, così, facile constatare che abbiamo a che fare con colture vaccinali, cioè che i conigli guariti sopportano senza problemi le colture più virulente del microscopico organismo della febbre tifoide dei conigli. Le colture vaccinali fatte a brevi intervalli conservano la virulenza vaccinale. La prova dell'influenza dell'ossigeno dell'aria nell'attenuazione è dato ancora dalle colture nel vuoto o al riparo dall'aria. Esse conservano la loro virulenza morendo dopo molto tempo, manifestano, inoltre, la virulenza sino al momento della morte delle colture.

Riassumendo, non possiamo dubitare di possedere un metodo generale di attenuazione, la cui applicazione deve solo essere modificata a seconda delle esigenze delle proprietà fisiologiche dei diversi microbi. In queste ricerche sono poste le più grandi speranze. Ma, sebbene la verità dimostrata sia eclatante, non viene, comunque, facilmente accettata. Ho incontrato, sia in Francia che all'estero, dei contraddittori ostinati. Permettetemi di scegliere tra quelli il cui merito personale richiama la nostra attenzione. Voglio parlarvi del dottor Koch, di Berlino. Un anno fa è comparsa a Berlino la *Raccolta dei Lavori dell'Ufficio Sanitario Tedesco*¹⁷. I miei lavori sono attaccati con una strana vivacità dal dottor Koch ed i suoi allievi¹⁸. Si trovano, in questa raccolta di memorie, delle cose davvero sorprendenti. Si insinua, in diverse pagine, che M. Pasteur non sa coltivare i microbi allo stato puro; che non sa se i suoi lavori siano esenti da errori poiché ignora la maniera di riconoscere

¹⁷ *Mittheilungen aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, 1881, in-4°.

¹⁸ KOCH (R.), Zur Aetiologie des Milzbrandes, pp. 49-79. – GAFFKY (G.), Experimentell erzeugte Septicämie mit Rücksicht auf progressive Virulenz und accomodative Züchtung, pp. 80-133. - LOEFFLER (Fr.), Zur Immunitätsfrage, pp. 134-187. (*Nota dell'Edizione*).

naître les micro-organismes; qu'il a entraîné toute une école à publier « des faits incroyables comme cultures... » On y dénonce que la façon usitée par moi pour inoculer consiste à injecter sous la peau une ou plusieurs seringues de liquide; que je n'ai jamais eu entre les mains la septicémie pure, sans complication d'autres maladies; que j'ai mal appliqué le mot de *septicémie*; que lui, M. Koch, est bien plus dans la vérité en l'appelant *œdème malin*; que M. Pasteur ne sait pas reconnaître le vibron septique, quoiqu'il l'ait découvert... Dans l'expérience du charbon donné aux poules par le seul fait d'abaisser leur température après inoculation, le docteur Koch, qui ne trouve rien de remarquable dans cette expérience, demande si les poules refroidies qui ont pris le charbon n'étaient pas des poules capables de le prendre naturellement, parce que, dit-il, un auteur allemand, en inoculant le charbon à des poules, a eu 11 fois sur 31 des résultats positifs. C'est là une assertion que le docteur Koch aurait pu se donner la peine de contrôler avant de s'en faire une arme contre la vérité d'observations très exactes.

Les élèves du docteur Koch ont encore renchéri sur leur maître. On trouve, par exemple, dans leurs Mémoires, que la seule garantie certaine de la pureté des cultures est le contrôle incessant au moyen du microscope, *ce qui est impossible avec les cultures de Pasteur*. Voici qui est plus fort encore: il s'agit de l'atténuation des virus. C'est M. Loeffler qui parle (1): « Quand, dans les expériences de Gaffky, les cultures ont présenté une action incertaine, « *une atténuation du virus* », il existait toujours une adulation par des organismes très analogues, à croissance rapide, mais non pathogènes. » M. Loeffler est cependant plus indulgent que son maître et que son collègue M. Gaffky; il me fait l'honneur de dire qu'il est disposé à croire que mes cultures étaient pures. Mais sait-on, dans la pensée de l'auteur, ce qui a pu m'induire en erreur? C'est que l'adulation de mes cultures commençait avec la vaccination. « L'air d'un laboratoire, dit-il, consacré depuis de longues années à des recherches bactériologiques, est rempli d'une masse énorme de germes; un germe n'a-t-il pas pu se déposer sur l'aiguille à vacciner, pénétrer dans le ballon, d'autant mieux qu'il fallait essayer fréquemment la virulence des cultures? » Voilà ce qui m'aura fait admettre l'atténuation du virus du *choléra des poules*. Ce n'est pas tout: quand je crois avoir entre les mains des poules vaccinées, l'auteur s'imagine que j'ai pu prendre, pour de telles poules, des poules qui tout simplement étaient réfractaires au choléra des poules. Enfin,

1. LOEFFLER. *Loc. cit.*, p. 137. (No'e de l'Édition.)

i micro-organismi; che ha spinto una scuola a pubblicare “dei fatti incredibili come colture...”. Vi si denuncia che il modo da me adottato per inoculare consiste nell’iniezione sottopelle di una o più siringhe di liquido; che non ho mai avuto tra le mani la setticemia pura, senza complicazioni di altre malattie; che ho usato male la parola *setticemia*; che lui, M. Koch, è molto più vicino alla verità chiamandola *edema maligno*; che M. Pasteur non sa riconoscere il vibrione settico, anche se l’ha scoperto... . Nell’esperienza del carbonchio dei polli per il solo fatto di abbassare la loro temperatura dopo l’inoculazione, il dottor Koch, che in quest’esperienza non trova niente di rimarcabile, chiede se i polli raffreddati che hanno preso il carbonchio non sarebbero stati capaci di prenderlo naturalmente, perché, dice lui, un autore tedesco, inoculando il carbonchio a dei polli ha avuto 11 risultati positivi su 31. È un’asserzione che il dottor Koch poteva darsi la pena di controllare prima di farne un’arma contro la verità di osservazioni esattissime. Gli allievi del dottor Koch fanno ancora i difficili con il loro maestro. Nelle loro Memorie, si trova, per esempio, che la sola garanzia certa della purezza delle colture è di controllare con il microscopio, *ciò che è impossibile con le colture di Pasteur*. Ecco ciò che è ancora più forte: si tratta dell’attenuazione dei virus. Parla M. Loeffler: “Quando, nell’esperienze di Gaffky, le colture hanno presentato un’azione incerta, “un’attenuazione del virus”, esisteva sempre una adulterazione degli organismi analoghi, a crescita rapida ma non patogeni”. M. Loeffler è più indulgente del suo maestro e collega M. Gaffky; mi fa l’onore di dire che è disposto a credere che le mie colture siano pure. Sapete cosa mi ha indotto all’errore, nel pensiero dell’autore? È che l’adulterazione delle mie colture comincia con la vaccinazione. “L’aria di un laboratorio, egli dice, utilizzato per lunghi anni per ricerche batteriologiche, è pieno di un’enorme massa di germi, uno di questi non avrebbe potuto posarsi su un ago da vaccino, penetrare nel pallone... ?”.

Ecco ciò che mi avrebbe fatto ammettere l’attenuazione del virus del colera dei polli. Non è tutto: quando credo di avere tra le mani dei polli vaccinati, l’autore si immagina che io abbia potuto prendere dei polli refrattari al colera dei polli. Infine,

l'auteur ne croit pas que j'aie opéré, comme je l'ai dit, sur quatre-vingts poules dans certaines de mes expériences, parce que j'aurais dépensé trop d'argent (1). C'est vrai, pour établir le grand fait de l'atténuation de la virulence, l'État m'a permis de ne pas compter.

Peut-être, dans cette assemblée, quelques personnes partagent-elles les opinions de mes contradicteurs. Qu'elles me permettent de les inviter à prendre la parole. Je serais heureux de les éclairer.

NOTE ADDITIONNELLE.

C'est sur les trois points suivants que le docteur Koch et ses élèves ont particulièrement insisté dans leurs critiques :

I. — *L'atténuation des virus et la vaccination.*

Pour ces observateurs, ces découvertes n'existent pas. Elles sont lettre morte. Lorsque j'eus pris connaissance de leurs désobligeantes diatribes, sans prendre la peine de leur répondre, je m'empressai de préparer les choses de façon qu'ils eussent sous les yeux la preuve de leurs méprises. Je fis ce que j'ai fait souvent pour les contradictions auxquelles toutes mes recherches ont donné lieu.

Le grand intérêt agricole du sujet m'en donna les moyens. A ma demande, M. le Ministre de l'agriculture de Prusse nomma une Commission qui fut composée de :

MM. BEYER, membre du Conseil supérieur du gouvernement, président;

D^r VIRCHOW, professeur, conseiller intime médical;

Comte ZIETEN-SCHWERIN, de Wustrau;

D^r DAMMANN, professeur, directeur de l'École vétérinaire de Hanovre;

ZIMMERMANN, de Benkendorf;

RIMPAU, de Schlanstedt;

EMLER, vétérinaire départemental;

D^r ROLOFF, directeur de l'École vétérinaire de Berlin;

D^r MÜLLER, professeur de cette École;

et sous la surveillance de laquelle, avec l'aide de M. Thuillier, attaché

1. LEFFLER. *Loc. cit.*, p. 136-138. (Note de l'Édition.)

l'autore non crede che io abbia operato, come ho detto, su 80 polli per certi esperimenti perché avrei dovuto spendere troppi soldi¹⁹. È vero che per stabilire il grande fatto dell'attenuazione della virulenza, lo Stato non ha badato a spese. ...

Può darsi, in questa assemblea, qualcuno abbia condiviso le opinioni dei miei contraddittori. Se mi permettono di prendere la parola sarei contento di chiarirgli tutto.

Nota aggiuntiva.

È sui seguenti tre punti che il dottor Koch ed i suoi allievi hanno particolarmente insistito con le loro critiche:

I. L'attenuazione dei virus e la vaccinazione.

Per questi osservatori, queste scoperte non esistono. Esse sono lettere morte. Quando ho preso conoscenza delle loro diatribe scortesie, senza darmi la pena di rispondere, mi sbrigai a preparare le cose per mettere sotto il loro occhi la prova dei loro errori. Feci ciò che ho fatto spesso per le contraddizioni dalle quali tutte le mie ricerche hanno avuto luogo.

Il grande interesse agricolo del soggetto mi dà i mezzi. Alla mia domanda il Ministro dell'Agricoltura di Prussia nomina una commissione composta da: MM. Beyer, membro del Consiglio Superiore del Governo e Presidente; dottor Virchow, professore, consigliere medico; Comte Zieten-Schwerin, di Wustrau; dottor Dammann, professore, Direttore della Scuola Veterinaria di Hanovre; Zimmermann di Benkendorf; Rimpau de Schlanstedt; Cömler, veterinario dipartimentale; dottor Roloff, Direttore della Scuola Veterinaria di Berlino; dottor Müller, professore di questa scuola; e sotto la sorveglianza della quale, con l'aiuto di M. Thuillier, dipendente

¹⁹LOEFFLER, *Loc. cit.*, pp. 136-138. (*Nota dell'Edizione*).

à mon laboratoire, furent faites des expériences de vaccination charbonneuse sur une grande échelle.

Le Rapport de la Commission, confié au professeur Müller, vient de paraître à Berlin. Il est intitulé : *Expériences sur l'action des inoculations contre le sang de rate, par la méthode de Pasteur, faites par ordre de M. le Ministre de l'agriculture, des domaines et des forêts sur des animaux des races bovine et ovine du domaine de Packisch.* — Berlin, 1882 (1).

Le docteur Koch et ses élèves doivent maintenant savoir à quoi s'en tenir sur la découverte de l'atténuation des virus.

II. — La septicémie.

Lorsque, en 1877, j'ai abordé l'étude du charbon, avec la collaboration de M. Joubert, les esprits étaient encore très partagés sur le rôle de la bactériémie dans cette affection. Tous les doutes au contraire sur ce microbe, envisagé comme cause exclusive du mal, tombèrent après la publication de notre Note du 30 avril 1877 (Étude sur la maladie charbonneuse, par MM. Pasteur et Joubert. *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, LXXXIV, 1877 [p. 900-906; et p. 164-171 du présent volume]). On pourrait à la rigueur invoquer pour preuve de ce que j'avance le passage suivant du docteur Koch, dans un Mémoire du recueil déjà cité. Après avoir considéré les démonstrations de notre Note comme superflues, il s'exprime ainsi (2) :

« Déjà le premier travail de Pasteur (il s'agit précisément de cette Note du 30 avril 1877), qui tendait à démontrer que les bacilles sont vraiment la cause de l'affection, présentait ce caractère.... Or, Brauell (3), en démontrant que le sang du fœtus (d'un animal mort du charbon) n'est pas virulent, Davaine (4), en montrant que le sang dilué au millionième ne perdait pas sa puissance, Tiegel et Klebs (5), en annonçant que le sang débarrassé des bactéries par la filtration deve-

1. Les Rapports sur les expériences de Packisch sont consignés dans CHAMBERLAND (Ch.). Le charbon et la vaccination charbonneuse. Paris, 1883, in-8°, p. 215-229.

Voir aussi : MÜLLER (C. F.). Die Milzbrandimpfungen in Packisch. *Archiv für die wissenschaftliche und praktische Thierheilkunde*, VIII, 1882, p. 319-338. — Die Schutzimpfung gegen den Milzbrand nach dem Pasteur'schen Verfahren. *Ibid.*, p. 468-479. — Weitere Mittheilungen über die in Deutschland ausgeführten Schutzimpfungen gegen den Milzbrand nach dem Pasteur'schen Verfahren. *Ibid.*, IX, 1883, p. 163-166; p. 241-243; p. 396-398.

2. KOCH (R.). *Loc. cit.*, p. 58.

3. BRAUELL. Weitere Mittheilungen über Milzbrand und Milzbrandblut. *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie*, XIV, 1858, p. 432-466.

4. DAVAINE. *Loc. cit.*

5. TIEGEL. Die Ursache des Milzbrandes. Nachschrift von KLEBS. *Arbeiten aus dem Berner pathologischen Institut*, 1871-1872. Würzburg, 1873, p. 130-137. (*Notes de l'Édition.*)

del mio laboratorio, furono fatti esperimenti di vaccinazione carbonchiosa su grande scala. Il rapporto della Commissione, confidato al Professor Müller, è recentemente apparso a Berlino. È intitolato: *Esperienze sull'azione delle inoculazioni contro il sangue di ratto, con il metodo Pasteur, fatte per ordine del Ministro dell'Agricoltura nella zona del Packisch su animali di razza bovina e ovina.* - Berlino, 1882.²⁰

Il dottor Koch ed i suoi allievi devono adesso sapere su cosa basarsi per la scoperta sull'attenuazione dei virus.

II. La setticemia.

Quando nel 1877, ho iniziato lo studio sul carbonchio, con la collaborazione di M. Joubert, gli spiriti erano ancora divisi sul ruolo del battericida in quest'affezione. Al contrario, tutti i dubbi su questo microbo, considerati come causa esclusiva del male, sono caduti dopo la pubblicazione della nostra Nota del 30 aprile 1877 ("Studi sulla malattia del carbonchio", compiuti da MM. Pasteur e Joubert. *Resoconto dell'Accademia delle Scienze*, LXXXIV, 1877 [pp. 900-906; e pp. 164-171 del presente volume]). Si potrà invocare come prova di ciò che vi anticipo il seguente passaggio del dottor Koch in una Memoria della Raccolta già citata. Dopo aver considerato le dimostrazioni della nostra Nota superflue, così si esprime²¹:

"Già il primo lavoro di Pasteur (si tratta precisamente di questa Nota del 30 aprile 1877), che tende a dimostrare che i bacilli sono veramente le cause dell'affezione, presentano questo carattere...". Ora, Brauell²², dimostrando che il sangue del feto di un animale morto di carbonchio) non è virulento, Davaine²³, dimostrando che il sangue diluito al millionesimo non perde la sua potenza, Tiegel e Klebs²⁴, annunciando che il sangue filtrato dai batteri diventava

²⁰ I rapporti sulle esperienze di Packisch sono in CHAMBERLAND (Ch.). *Le charbon et la vaccination charbonneuse*, Parigi, 1883, in 8°; pp. 215-229. Vedere anche: MÜLLER (C. F.), *Die Milzbrandimpfungen in Packisch*, *Archiv für die wissenschaftliche und praktische Thierheilkunde*, VIII, 1882, pp. 319-338. – *Die Schutzimpfung gegen den Milzbrand nach dem Pasteur'schen Verfahren*, pp. 468-479. – *Weitere Mittheilungen über die in Deutschland ausgeführten Schutzimpfungen gegen den Milzbrand nach dem Pasteur'schen Verfahren*, IX, 1883, pp. 163-166; pp. 241-243; pp. 396-398.

²¹ KOCH (R.), *Loc. cit.*, p. 58.

²² BRAUELL, *Weitere Mittheilungen über Milzbrand und Milzbrandblut*, *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie*, XIV, 1858, pp. 432-466.

²³ DAVAINÉ, *Loc. cit.*

²⁴ TIEGEL, *Die Ursache des Milzbrandes. Nachschrift von Klebs*, *Arbeiten aus dem Berner pathologischen Institut*, 1871-1872, Würzburg, 1873, pp. 130-137. (*Nota dell'Edizione*).

nait inoffensif, avaient suffisamment démontré cela... Il est vrai, ajoute Koch, que l'on pouvait objecter que, pour rendre le sang charbonneux virulent, les bacilles devaient exister, mais que cette infection résultait, non de l'action des microbes, mais d'un poison spécial qui y reste adhérent. Au fond et au point de vue pratique, cette objection n'avait aucune importance ».

M. Zuber, professeur au Val-de-Grâce, qui a résumé pour la *Revue d'hygiène* de M. Vallin le Mémoire du professeur Koch, joint à cette citation les remarques suivantes :

« Comme les opinions peuvent différer! Nous pensions, et beaucoup de monde avec nous, que cette objection était d'une importance capitale, et nous reprochions précisément aux auteurs qui sont cités plus haut d'opérer sur un liquide complexe par des procédés compliqués qui rendaient les résultats douteux. C'est pour cela que nous avons salué avec joie les expériences au moyen des cultures à la vingtième, à la quarantième... génération, parce que le résultat était débarrassé de toutes les complications gênantes et paraissait clair et net à tous les yeux! » (ZUBER. *Revue d'hygiène*, 20 février 1882.)

Une autre preuve des doutes qui s'emparaient des meilleurs esprits, touchant le rôle des bactériidies, est donnée par un passage de M. Chauveau dans son travail sur les virus (1); je regrette de ne pouvoir le citer, n'ayant pas le texte sous les yeux.

Ce qu'on ne doit pas omettre surtout, c'est la Note présentée à la Société de biologie par M. Paul Bert, à la veille, pour ainsi dire, de notre Note du 30 avril, le 13 janvier 1877, postérieure par conséquent aux travaux de Brauell, de Davaine, de Tiegel et Klebs, de Koch lui-même :

« Je puis, disait M. Paul Bert, faire périr la bactériidie de la goutte de sang par l'oxygène comprimé, inoculer ce qui reste et reproduire la maladie et la mort, sans que la bactériidie se montre. Donc les bactériidies ne sont ni la cause ni l'effet nécessaire de la maladie charbonneuse. Celle-ci est due à un virus (2). »

Est-ce que cette expérience de M. Paul Bert ne venait pas à l'appui des assertions de MM. Jaillard et Leplat, dans la discussion qu'ils soutinrent contre le docteur Davaine devant l'Académie des sciences (3)?

1. CHAUVEAU (A). Nature du virus-vaccin. *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, LXVI, 1868, p. 289, 317 et 359.

2. BERT (P.). Nouvelles recherches sur le sang de rate. *Comptes rendus des séances et Mémoires de la Société de biologie*, séance du 13 janvier 1877, XXIX, p. 19.

3. Voir, à ce sujet, p. 161-162 du présent volume : Note au sujet de la Communication de MM. Leplat et Jaillard; et p. 162-163 : Observations verbales présentées à la suite de la Communication de M. Davaine. (Notes de l'Édition.)

inoffensivo, avevano dato abbondanti dimostrazioni.

È vero che, aggiunge Koch, si poteva obiettare che, per rendere il sangue carbonchioso virulento, i bacilli dovevano esserci, ma che quest'azione risultava non dall'azione dei microbi, ma da un veleno speciale. In fondo, dal punto di vista pratico, questa obiezione non aveva alcuna importanza”.

M. Zuber, professore in Val-de-Grâce, che ha riassunto per la *Rivista di Igiene* di M. Vallin le Memorie del professor Koch, aggiunge a questa citazione le seguenti parole:

“Come le opinioni possono differire! Noi pensiamo e molti altri con noi, che questa obiezione era di importanza capitale, e rimproveriamo gli autori su citati di operare su un liquido complesso con procedimenti complicati che fanno dubitare dei risultati. È per questo che abbiamo salutato con gioia le esperienze che hanno nelle colture da venti a quaranta e più generazioni perché siano tolte tutte le complicazioni ed i risultati siano chiari e netti ai nostri occhi!”.

(Zuber, *Rivista di Igiene*, 20 febbraio 1882).

Un'altra prova dei dubbi che si impadroniscono dei migliori spiriti, toccando il ruolo dei battericidi, è data da un passaggio di M. Chauveau nel suo lavoro sui virus²⁵; mi dispiace non poterlo citare non avendo il testo sotto gli occhi. Ciò che, soprattutto, non va ommesso è la Nota presentata alla Società di Biologia da Paul Bert, alla “vigilia” della nostra nostra Nota del 30 aprile, il 13 gennaio 1877, successiva, quindi, al lavoro di Brauell, di Davaine, di Tiegel e Klebs, dello stesso Koch:

“Posso, diceva Paul Bert, far morire il batterio della goccia di sangue con dell'ossigeno compresso, inoculare ciò che resta e produrre la malattia e la morte, senza che il batterio si mostri. Dunque i batteri non sono né la causa né l'effetto necessario della malattia carbonchiosa. Questa è dovuta ad un virus”²⁶.

E se questa esperienza di Paul Bert non fosse venuta in appoggio alle asserzioni di Jaillard e Leplat, nella discussione sostenuta contro il dottor Davaine davanti all'Accademia delle scienze?²⁷.

²⁵ CHAUVEAU (A.), Nature du virus-vaccin, *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, LXVI, 1868, pp. 289, 317 e 359.

²⁶ BERT (P.), Nouvelles recherches sur le sang de rate, *Comptes rendus des séances et Mémoires de la Société de biologie*, seduta del 13 gennaio 1877, XXIX, p.19.

²⁷ Vedere, a questo proposito, pp. 161-162 del presente volume: Note au sujet de la Communication de MM. Leplat et Jaillard; e pp. 162-163: Observations verbales présentées à la suite de la Communication de M. Davaine. (*Nota dell'Edizione*).

Je le demande à M. Koch : au nom de quel argument aurait-il pu, à ce moment, protester contre les faits avancés par M. Paul Bert ? Ce qui est certain, c'est que personne ne s'en est avisé.

Bref, dans toutes les obscurités que je rappelle, d'où est venue la lumière, sinon des Notes que nous avons publiées les 30 avril et 16 juillet 1877 ? (Voir, *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, Pasteur et Joubert, LXXXIV, p. 900 et LXXXV, p. 101) [1].

Dans ces Notes complétées par celle du 29 avril 1878 (*Comptes rendus de l'Académie des sciences et Bulletin de l'Académie de médecine*, intitulée : la théorie des germes), et faite en collaboration avec MM. Joubert et Chamberland (2), la découverte du vibrion septique proprement dit n'a-t-elle pas mis en évidence les erreurs commises jusque-là ? Comment ! ce vibrion est isolé, étudié dans ses propriétés, démontré être *anaérobie*, cultivé à l'état de pureté dans des cultures successives à l'aide du vide, atténué même ou rendu à sa virulence, et le Dr Koch ne craint pas d'écrire que « Pasteur n'a jamais eu devant les yeux la septicémie infectieuse dans sa forme non compliquée (3) », alors que nous avons donné, d'une part, le moyen infaillible d'avoir la maladie et proposé, [d'autre part], pour séparer le vibrion septique de la bactériidie charbonneuse, ce procédé si simple de semer le sang qui renferme ces deux microbes : 1° dans le vide ; 2° au contact de l'air. Dans le premier cas on recueille le vibrion septique pur, parce qu'il est anaérobie ; dans le second cas, la bactériidie se multiplie seule, parce qu'elle est aérobie exclusivement. Contrairement à la vérité, Koch prétend que, pour obtenir cette maladie, j'injecte sous la peau d'un animal une ou plusieurs seringues de liquide putride, mode d'opérer dont je ne me suis jamais servi dans aucune de mes recherches.

C'est à croire que le Dr Koch ne lisait mes Communications que dans les travestissements de M. Colin, d'Alfort.

Sur quoi peut encore s'appuyer M. Koch (4) pour critiquer le mot *septicémie* et le remplacer par celui d'*œdème malin*, dénomination qui eût été impardonnable dans le sujet, puisque chacun sait qu'en France l'expression *œdème malin* désigne une des formes du charbon chez l'homme ? N'eût-il pas été convenable de sa part de conserver à une

1. Voir, p. 164-171 du présent volume : Étude sur la maladie charbonneuse, avec la collaboration de M. Joubert ; p. 172-188 : Charbon et septicémie, avec la collaboration de M. Joubert.

2. Voir, p. 112-130 du présent volume : La théorie des germes et ses applications à la médecine et à la chirurgie, avec la collaboration de MM. Joubert et Chamberland.

3. KOCH (R.). *Loc. cit.*, p. 53.

4. KOCH (R.). *Loc. cit.*, p. 53-57. (*Notes de l'Édition.*)

Domando a Koch: a nome di quale argomento avrebbe potuto protestare contro i fatti avanzati da Paul Bert? Ciò che è certo è che nessuno se ne sia accorto.

Tra tutte le oscurità che ricordo, da dove è venuta la luce, se non dalle Note che abbiamo pubblicato il 30 aprile ed il 16 luglio 1877? (Vedere, il *Rendiconto dell'Accademia delle Scienze*, Pasteur e Joubert, LXXXIV, p. 900 e LXXXV, p. 101)²⁸.

In queste Note, completate con quelle del 29 aprile 1878 (*Rendiconto dell'Accademia delle Scienze e Bollettino dell'Accademia di Medicina*, intitolato: La Teoria dei germi), fatto in collaborazione con Joubert e Chamberland²⁹.

La scoperta del vibrione settico non ha messo in evidenza gli errori sin lì commessi?

Come! Questo vibrione è isolato, studiato nelle sue proprietà e dimostrato *anaerobico*, coltivato allo stato puro in colture successive con l'aiuto del vuoto, attenuato o privato della sua virulenza ed il dottor Koch non ha paura di scrivere che "Pasteur non ha mai avuto davanti ai suoi occhi la setticemia infettiva in questa forma non complessa"³⁰, quando noi abbiamo dato i mezzi infallibili per avere la malattia e proposto [in più], per separare il vibrione settico dal batterio carbonchioso, questo processo così semplice, seminare il sangue che racchiude questi due microbi: il 1° nel vuoto; il 2° a contatto dell'aria. Nel primo caso si raccolgono i vibriani settici puri, perché è anaerobico; nel secondo caso, il batterio si moltiplica da solo perché è esclusivamente aerobico. Contrariamente al vero, Koch pretende che, per ottenere questa malattia, io inietto una o più siringhe di liquido putrido, modo di operare del quale non mi sono mai servito in alcuna delle mie ricerche.

C'è da credere che il dottor Koch non abbia letto le mie Comunicazioni che nei travestimenti di Colin, D'Alfort.

Su cosa possa ancora appoggiarsi Koch³¹ per criticare la parola *setticemia* e sostituirla con quella di *edema maligno*, denominazione imperdonabile per questo soggetto poiché ognuno, in Francia, sa che l'espressione *edema maligno* designa una delle forme del carbonchio nell'uomo? Non sarebbe conveniente, da parte sua, lasciare per una malattia,

²⁸ Vedere pp. 164-171 del presente volume: Étude sur la maladie charbonneuse, avec la collaboration de M. Joubert; pp. 172-188: Charbon et septicémie, avec la collaboration de M. Joubert.

²⁹ Vedere pp. 112-130 del presente volume: La théorie des germes et ses applications à la médecine et à la chirurgie, avec la collaboration de MM. Joubert et Chamberland.

³⁰ KOCH (R.), *Loc. cit.*, p.53.

³¹ KOCH (R.), *Loc. cit.*, pp. 53-57. (*Nota dell'Edizione*).

maladie qui venait d'être nettement caractérisée le nom que lui avaient donné ceux à qui l'on devait la connaissance des propriétés fondamentales du microbe qui l'engendre?

Notre septicémie est-elle bien la *maladie dite de la vache* par le docteur Davaine? Je ne l'ai point vérifié par des épreuves directes. Cela paraissait être, puisque MM. Jaillard et Leplat qui, en définitive, l'ont signalée les premiers, tout en méconnaissant sa véritable nature, l'avaient obtenue à l'aide d'un sang charbonneux venant d'une vache morte spontanément, à Chartres, du *sang de rate*. De même, M. Paul Bert l'avait vue dans les mêmes conditions. Toutefois, dans une des réunions tenues dans mon laboratoire par la Commission de l'Académie de médecine nommée sur ma demande, le 1^{er} février 1881 (1), lorsque je mis sous les yeux de la Commission des cobayes morts de la septicémie décrite dans les Notes de 1877 à 1878, que j'ai déjà mentionnées, je demandai au docteur Davaine, qui était un des membres de la Commission, s'il reconnaissait la septicémie qu'il avait étudiée. « Non, me répondit M. Davaine, je n'avais pas ces inflammations intenses de tous les muscles de l'abdomen, des bras et des cuisses. » Ceci n'intéresse en quoi que ce soit l'exactitude de nos études sur la septicémie aiguë, si facile à caractériser par ses origines, puisqu'on la trouve invariablement, par exemple, dans un cadavre d'animal charbonneux (de mouton, de préférence), naturellement associée au charbon quand le cadavre a été abandonné à lui-même pendant 15 à 30 heures, suivant la température extérieure. Le procédé de M. Davaine pour obtenir la septicémie qu'il a décrite n'avait pas la même certitude, comme je l'ai déjà fait remarquer autrefois quand, avec les conseils de M. Davaine lui-même, j'avais essayé de reproduire la septicémie à l'aide de sang de bœuf abandonné dans une étuve pendant un temps variable. Quoi qu'il en soit, il serait fort à désirer que M. Davaine fixât, par la nature du microbe de la maladie, la maladie qu'il a étudiée.

III. — *Rôle des vers de terre.*

Une de nos recherches paraît avoir eu, plus que toutes les autres, le don de blesser le sens observateur du docteur Koch : c'est celle relative au rôle des vers de terre dans l'étiologie du charbon. Il le prend même sur le ton plaisant. « Ah! voilà une découverte de M. Pasteur, dit-il, que personne ne s'avisera de lui contester! » Il

1. Voir p. 275-278 du présent volume. (Note de l'Édition.)

che è appena stata nettamente caratterizzata, il nome dato da colui al quale si deve la conoscenza delle proprietà fondamentali del microbo che l'ha generata?

La nostra setticemia è la *malattia detta della vacca* dal dottor Davaine? Non ho verificato con prove dirette. Questo sembra essere vero così poiché Jallard e Leplat, che, in definitiva l'hanno segnalata per primi, non riconoscevano la vera natura, l'avevano scoperta con il sangue carbonchioso di una vacca morta spontaneamente, a Chartres, *dal sangue di ratto*. Lo stesso Paul Bert l'aveva vista nelle stesse condizioni. Tuttavia, in una riunione tenutasi nel mio laboratorio dalla Commissione dell'Accademia di Medicina nominata su mia domanda, il 1° febbraio 1881³², quando ho messo sotto gli occhi della commissione delle cavie morte della setticemia descritta nelle Note dal 1877 al 1878 che ho già menzionato, ho chiesto al dottor Davaine, membro della commissione, se riconosceva la setticemia che aveva studiato “No, non avevo questa infiammazione intensa di tutti i muscoli dell'addome, delle braccia e delle cosce”, mi rispose Davaine.

Questo non interessa in quanto l'esattezza dei nostri studi sulla setticemia acuta, così facile da caratterizzarsi per le sue origini, come la si trova invariabilmente, per esempio, in un cadavere di un animale carbonchioso (del montone, di preferenza), associato al carbonchio quando il cadavere è stato abbandonato a se stesso da 15 a 30 ore, seguendo la temperatura esterna. Il processo di Davaine per ottenere la setticemia che ha descritto non aveva la stessa certezza, come ho già fatto notare altre volte quando, con i consigli di Davaine stesso, ho cercato di riprodurre la setticemia con il sangue di bue abbandonato in un sterilizzatore per un periodo variabile.

In ogni caso occorre veramente desiderare che Davaine fissi, per la natura del microbo della malattia, la malattia che ha studiato.

III. Ruolo dei vermi di terra.

Una delle nostre ricerche pare abbia avuto, più di tutte le altre, il dono di ferire il senso di osservazione del dottor Koch: è quella relativa al ruolo dei vermi di terra nell'eziologia del carbonchio. Le prende pure in tono scherzoso. “Ah! Ecco una scoperta di Pasteur, dice, che nessuno gli contesterà!”.

³² Vedere pp. 275-278 del presente volume. (*Nota dell'Edizione*).

s'indigne même qu'en Allemagne « elle ait eu des admirateurs () ».

Quoi de mieux démontré cependant que le rôle des vers de terre, et quelle suite logique dans les démonstrations !

Tout d'abord nous reconnaissons que des spores de bactériidies ajoutées aux aliments peuvent faire périr des moutons, mais pas en totalité, même lorsque les repas sont répétés.

Nous constatons ensuite que les lésions chez nos animaux morts sont celles des animaux morts spontanément.

L'idée se présente alors naturellement que le charbon spontané peut être dû à des contagions par spores, répandues sur les aliments, au parcage ou dans l'étable ; l'idée aussi se présente également de la nécessité de rechercher quelle pouvait être l'origine de ces spores.

La première étude expérimentale consistait évidemment à rechercher si ces spores ne pouvaient provenir des cadavres charbonneux enfouis dans les champs.

Alors on démontre en premier lieu que du sang charbonneux, répandu sur de la terre arrosée d'urine, s'y cultive et donne très promptement des spores ; puis on constate la présence des spores charbonneuses à la surface des terres des fosses et leur absence partout ailleurs ; à trois reprises, en deux ans, on trouve des spores de charbon dans la terre de la surface d'une fosse où on avait enfoui une vache entière non dépecée.

Enfin, on constate que la terre autour d'un cadavre charbonneux enfoui depuis deux ans est remplie de spores du parasite du charbon. J'ai expliqué comment cela pouvait avoir lieu, quoique jamais les spores ne se forment dans le cadavre. (Voir *Bulletin de l'Académie de médecine*, novembre 1879 ⁽²⁾.)

Mais la terre est un filtre puissant, même pour les germes les plus ténus, comme l'avaient démontré nos expériences antérieures (Pasteur et Joubert) sur la pureté absolue des eaux de source ⁽³⁾. Comment donc peuvent remonter à la surface des fosses les germes charbonneux ?

Chose intéressante, dans nos recherches sur la présence des germes du charbon dans la terre de la surface des fosses, pour faciliter les décantations de nos terres mises en suspension dans l'eau et afin de recueillir les particules les plus petites, nous avons eu recours

1. KOCH (R.). *Loc. cit.*, p. 63.

2. Voir, p. 232-238 du présent volume : Étiologie du charbon ; et p. 238-241 : Étiologie du charbon.

3. Voir, p. 467-469, tome II des ŒUVRES DE PASTEUR : Sur les germes des bactéries en suspension dans l'atmosphère et dans les eaux, avec la collaboration de M. Joubert. (*Notes de l'Édition.*)

Si indigna che in Germania “questa abbia avuto degli ammiratori”³³.

Buona dimostrazione sul ruolo dei vermi di terra e che logica nelle dimostrazioni!

Innanzitutto riconosciamo che delle spore batteriche aggiunte agli alimenti possono far morire dei montoni, ma non una totalità anche se i pasti fossero ripetuti.

Constatiamo, in seguito, che le lesioni negli animali morti sono le stesse che negli animali morti spontaneamente. L'idea si presenta spontaneamente visto che il carbonchio spontaneo può essere causato dal contagio tramite spore, contenute negli alimenti, nella stabbatura o nella stalla; l'idea si presenta anche per la necessità di cercare l'origine di queste spore.

Il primo studio sperimentale consisteva, evidentemente, nel capire se queste spore potessero provenire dai cadaveri carbonchiosi sepolti nei campi.

Quindi, dimostriamo, in primo luogo, che il sangue carbonchioso sparso sulla terra bagnata di urina se coltivato dà presto delle spore; si constata poi la presenza di spore carbonchiose sulla superficie di terreni e fossati e la loro assenza altrove; a tre riprese, in due anni, si trovano spore di carbonchio nella terra alla superficie di una fossa dove era stata sotterrata una vacca intera non squartata.

Infine, si constata che la terra attorno ad un cadavere carbonchioso sotterrato da due anni è piena di spore del parassita del carbonchio. Ho spiegato come questo possa accadere anche se le spore non venissero a formarsi nel cadavere stesso, (vedere *Bollettino dell'Accademia di Medicina*, novembre 1879)³⁴.

Ma la terra è un filtro potente anche per i germi più sottili come hanno dimostrato le nostre precedenti esperienze (Pasteur e Joubert) sulla assoluta purezza delle acque delle sorgenti³⁵.

Cosa interessante, nelle nostre ricerche sulla presenza dei germi del carbonchio nella terra della superficie delle fosse, per facilitare le decantazioni delle nostre terre messe in sospensione nell'acqua per raccogliere le particelle più piccole, abbiamo fatto ricorso

³³ KOCH (R.), *Loc. cit.*, p. 63.

³⁴ Vedere pp. 232-238 del presente volume: *Étiologie du charbon*, e pp. 238-241: *Étiologie du charbon*.

³⁵ Vedere pp. 467-469, Tomo II delle ŒUVRES DE PASTEUR: *Sur les germes bactériens en suspension dans l'atmosphère et dans les eaux, avec la collaboration de M. Joubert. (Note dell'Edizione).*

aux excréments des vers de terre. Cette circonstance nous suggéra l'idée de s'assurer si ces excréments n'étaient pas précisément les auteurs du transport des germes des profondeurs à la surface. Les expériences les plus précises, les plus multipliées donnèrent raison à cette vue préconçue. Bien plus, par l'emploi de certains antiseptiques qui s'opposent au développement de la foule de germes de microbes d'espèces variées que renferme la terre, nous avons réussi, tout en respectant la germination des germes du charbon, à cultiver les excréments des vers de terre et à en faire sortir de belles cultures de la bactériidie à l'état de pureté. Les préceptes les plus simples ont pu être édictés en toute connaissance de cause pour la prophylaxie de la terrible affection, à la suite de cet ensemble de faits si logiquement déduits. Combien tout cela a laissé loin les quelques vues émises par Koch au sujet de l'étiologie du charbon! Depuis la découverte des spores du charbon par le docteur Koch, on ne pouvait avoir que des vues *a priori*, au sujet de leur rôle dans l'étiologie. En reconnaissant pour la première fois dans mes *Études sur la maladie des vers à soie* l'existence de spores dans des vibrions (1), j'avais prouvé que la poussière de ces germes conservait sa vitalité et son pouvoir de germination pendant plusieurs années. Cette circonstance devait suggérer la pensée qu'il en serait de même des spores charbonneuses; mais là s'arrêtaient les conjectures.

En résumé, pas une des critiques du Recueil allemand de 1881 qui renferme les travaux du docteur Koch et de ses élèves ne reste debout. Ces critiques n'ont fait que mettre en lumière une foule d'erreurs et d'inexpériences de leurs auteurs.

1. Voir, p. 153-154, 207 et 231-232, tome IV des ŒUVRES DE PASTEUR. (Note de l'Édition.)

agli escrementi dei vermi di terra. Questa circostanza ci suggerirà l'idea di assicurarci se questi escrementi non siano gli autori del trasporto dei germi in superficie. Le più diverse e precise esperienze daranno ragione a questa idea preconcepita. Con l'esempio di certi antisettici che si oppongono allo sviluppo di diversi germi dei microbi di diverse specie nascosti nella terra, siamo riusciti, rispettando la germinazione dei germi del carbone, a coltivare gli escrementi dei vermi di terra e a farne uscire delle belle colture battericide allo stato puro. I più semplici precetti hanno potuto essere pubblicati conoscendo tutte le cause per la profilassi della terribile affezione, in seguito a questi fatti così logicamente dedotti. Come tutto questo è lontano dal punto di vista emesso da Koch sull'eziologia del carbonchio! Dopo la scoperta delle spore del carbonchio fatta dal dottor Koch, potevamo avere che opinioni a priori, sul loro ruolo nell'eziologia. Riconoscendo per la prima volta nei miei *Studi sulla malattia dei bachi da seta* l'esistenza delle spore nei vibroni³⁶, avevo provato che la polvere di questi germi conservava la sua vitalità ed il suo potere di germinazione per molti anni. Questa circostanza doveva suggerire il pensiero che fossero spore carbonchiose; ma lì si fermano le congetture.

Riassumendo, non una delle critiche della Raccolta tedesca del 1881, che chiude i lavori del dottor Koch e dei suoi allievi resta in piedi. Queste critiche non hanno fatto altro che mettere in luce una quantità di errori e di inesprienze dei loro autori.

³⁶ Vedere pp. 153-154, 207 e 231-232, Tomo IV delle ŒUVRES DE PASTEUR. (*Nota dell'Edizione*).

Sulla vaccinazione anti-carbonchio. Una replica alla conferenza tenuta da Pasteur a Ginevra

Koch R., *Über die Milzbrandimpfung. Eine Entgegnung auf den von Pasteur in Genf gehaltenen Vortrag.*

George Thieme, Lipsia, 1882.

Über die Milzbrandimpfung.¹⁾
Eine Entgegnung auf den von Pasteur in Genf gehaltenen Vortrag.

Von
Dr. R. Koch,
Geh. Regierungsrat.

Im Programm des 4. internationalen hygienischen Kongresses in Genf, welcher im September dieses Jahres stattfand, hatte Pasteur für eine der allgemeinen Sitzungen einen Vortrag über Abschwächung der Ansteckungsstoffe angekündigt. Als Mitglied des Kongresses unterließ ich es selbstverständlich nicht, diese Sitzung zu besuchen, weil ich bestimmt erwartete, wissenschaftlich verwertbare Angaben über das von Pasteur befolgte Verfahren zur Abschwächung der Milzbrandbazillen, zuverlässige Zahlen über die Verluste bei der Präventivimpfung und die Widerstandsfähigkeit der geimpften Tiere gegen die natürliche Infektion zu erfahren. Ferner war zu hoffen, daß neue wichtige Entdeckungen bezüglich der Infektionskrankheiten mitgeteilt würden. Es war bekannt geworden, daß Pasteur im Jahre zuvor sich mit Studien über das gelbe Fieber gelegentlich des Auftretens dieser Krankheit im südlichen Frankreich beschäftigt hatte und daß er seit geraumer Zeit bemüht war, die Mikroben der Lungenseuche zu entdecken.

Aber nichts von diesem bekam der Kongreß zu hören, sondern nur bekannte Dinge von der Hühnercholera, von der nouvelle maladie de la rage und in bezug auf die Milzbrand-Präventivimpfungen nur die an sich ganz wertlose Angabe, daß bis jetzt so und soviel Tausende von Tieren geimpft seien. Das einzige anscheinend Neue waren Mitteilungen über einen Parasiten, welchen Pasteur bei dem typhösen Fieber der Pferde entdeckt haben wollte, der aber, wie wir später sehen werden, unzweifelhaft ebenfalls in die Reihe der schon bekannten Dinge gehört. Alles dies diente offenbar auch nur als Unterlage für eine gegen mich gerichtete Polemik, welche nicht etwa auf das angekündigte Thema beschränkt blieb, sondern sich über alle Differenzen in unseren beiderseitigen Anschauungen bezüglich der Milzbrandätiologie erstreckte. Diese meiner Meinung nach zum größten Teil schon erledigten Fragen über die Abkühlung der Hühner, Bedeutung der Regenwürmer usw. haben für die Hygiene kein wesentliches Interesse und eine Diskussion über dieselben gehört auf keinen Fall in die allgemeine Sitzung eines hygienischen Kongresses, und zwar um so weniger, als Pasteurs Polemik nicht darauf ausging, mich durch tatsächliche Beweise zu widerlegen, sondern sich in allgemeinen Phrasen bewegte und zum großen Teil persönlich und in einem gereizten Tone gehalten war. Es erschien mir deswegen das Angemessenste zu sein, mich auf einen kurzen Protest gegen Pasteurs Angriffe zu beschränken und mir eine ausführliche Entgegnung vorzubehalten²⁾. Indem ich dieselbe hiermit der Öffentlichkeit übergebe, halte ich es für zeitgemäß, bei dieser Gelegenheit überhaupt meine Stellung zu den Pasteurschen Arbeiten

¹⁾ Leipzig 1882. Verlag von Georg Thieme.

²⁾ Die hierauf bezügliche Bemerkung in Bd. I der Verhandlungen des IV. Internationalen Hygiene-Kongresses, p. 145, lautet: M. le prof. R. Koch, de Berlin, monte ensuite à la tribune

Sulla vaccinazione anti-carbonchio¹
Una replica alla conferenza tenuta da Pasteur a Ginevra

del

Dott. R. Koch,

Funzionario statale in carica

Nel programma del IV Congresso Igienico Internazionale di Ginevra, che ebbe luogo nel settembre di quest'anno, Pasteur annunciò, per una delle sedute generali, una relazione sull'attenuazione delle sostanze infettive. Come membro del congresso, ovviamente non mi astenni dal partecipare a questa seduta, poiché mi aspettai con certezza di apprendere delle informazioni scientificamente utili sulle tecniche eseguite da Pasteur riguardo all'attenuazione dei bacilli del carbonchio, dei dati attendibili sui fallimenti nelle vaccinazioni preventive e la resistenza degli animali vaccinati contro l'infezione naturale. Inoltre, si sperava che venissero comunicate nuove e importanti scoperte relative alle malattie infettive. Era noto che Pasteur, nell'anno precedente, si occupò di studi sulla febbre gialla occasionalmente circa la comparsa di questa malattia nel sud della Francia e che, da tanto tempo, era impegnato nella scoperta dei microbi dell'epidemia polmonare.

Ma nulla di tutto questo venne sentito nel congresso, se non solamente cose note sul colera dei polli, sulla "nouvelle maladie de la rage" e, sulla vaccinazione preventiva contro il carbonchio, solamente informazioni totalmente prive di valore, sul fatto che fino ad ora migliaia di animali sono stati vaccinati. L'unica, apparentemente nuova, fu la comunicazione su un parassita, che Pasteur pare abbia scoperto nella febbre da tifo dei cavalli, che però, come vedremo più in là, appartiene anch'esso indubbiamente alle cose già note. Tutto questo servì palesemente ad uno sfondo per una polemica orientata contro di me, che non rimase inquadrata nel preannunciato tema, ma si espanse fino ad abbracciare tutte le differenze delle nostre relative visioni riguardo all'eziologia del carbonchio. Tutte queste domande sulla refrigerazione delle galline, sul significato dei lombrichi, ecc... che, secondo il mio parere hanno in gran parte già trovato risposta, non rappresentano nessun reale interesse per l'igiene e, una discussione su tali argomenti, non è in nessun caso indicata ad una seduta di un congresso di igiene e, tanto meno, perchè la polemica di Pasteur non mirò a confutarmi con dimostrazioni concrete, bensì muovendosi con frasi generiche e, per la maggior parte, tenuta con un tono personale alquanto irritato. Mi parve perciò cosa adeguata, limitarmi ad una breve contestazione contro gli attacchi di Pasteur e riservarmi la facoltà di una dettagliata replica². Mentre affido quest'ultima nel presente modo all'opinione pubblica, ritengo sia adeguato, in questa occasione, esporre comunque la mia posizione riguardo ai lavori di Pasteur,

¹ Lipsia 1882, Edizione di Georg Thieme.

² Il suddetto commento, presente nel vol. I delle trattative del IV congresso internazionale di igiene, p. 145, dice: Il prof. R. Koch, di Berlino, sale successivamente sulla tribuna e pronuncia, in tedesco, il seguente discorso, il quale è immediatamente tradotto in francese dal Signor Haltenhoff: " Avendo appreso dal programma del congresso che il Signor Pasteur parlerà oggi dell'attenuazione dei virus, mi sono presentato alla seduta con la speranza di apprendere qualche fatto nuovo sul soggetto che mi interessa particolarmente. In questo momento devo ammettere, che sono stato deluso nel mio intento e che, nella comunicazione di oggi del Signor Pasteur, non c'è niente di nuovo. Non mi sembra appropriato rispondere qui agli attacchi del Signor Pasteur e questo per due ragioni: innanzitutto, perché i punti di discussione non rientrano che indirettamente nel dominio dell'igiene strettamente detta, e in seguito perché, non conoscendo bene il francese e Signor Pasteur non conoscendo bene il tedesco, non potremmo intraprendere qui una discussione fruttuosa . Mi riservo la facoltà di rispondere a Signor Pasteur tramite i giornali di medicina." L'editore.

auf dem Gebiete der Erforschung der Infektionskrankheiten darzulegen. Es bedarf wohl kaum der Versicherung, daß, wenn ich auch in vielen Punkten Pasteur widersprechen muß, ich deswegen seinen anderweitigen bedeutenden Verdiensten um die Wissenschaft meine Anerkennung nicht versage.

Ein tiefgreifender Unterschied besteht zwischen der Methoden, welche für die Erforschung der Infektionskrankheiten von Pasteur und mir befolgt werden, und es konnte schon allein aus diesem Grunde nicht ausbleiben, daß wir bei unseren experimentellen Untersuchungen zu abweichenden Resultaten gelangten.

Der von mir eingenommene Standpunkt ist, kurz charakterisiert, folgender: Es ist noch nicht bewiesen, daß sämtliche Infektionskrankheiten durch parasitische Mikroorganismen bedingt werden, und es muß deswegen in jedem einzelnen Falle der Nachweis des parasitischen Charakters der Krankheit geliefert werden. Den ersten Schritt zu diesem Nachweis bildet die sorgfältige Untersuchung aller von der Krankheit veränderten Körperteile, um das Vorhandensein der Parasiten, ihre Verteilung in den erkrankten Organen und ihre Beziehungen zu den Geweben des Körpers festzustellen. Selbstverständlich sind für diese Untersuchung sämtliche Hilfsmittel, welche die mikroskopische Technik der Neuzeit bietet, zur Anwendung zu bringen. Es sind die Gewebe und Gewebssäfte, Blut, Lymphe usw. frisch, ohne und mit Reagentien mikroskopisch zu untersuchen, sie sind dann am Deckglas einzutrocknen und mit den verschiedensten Färbungsverfahren zu behandeln; die gehärteten Objekte sind durch das Mikrotom in feine Schnitte zu zerlegen, ebenfalls zu färben und die so vorbereiteten mikroskopischen Präparate unter Anwendung zweckmäßiger Beleuchtungsmethoden und mit den besten Linsensystemen einer eingehenden mikroskopischen Prüfung zu unterwerfen. Erst nachdem man in dieser Weise sich eine gründliche Orientierung darüber verschafft hat, ob Mikroorganismen in den erkrankten Teilen vorhanden sind, an welchen Stellen sie in voller Reinheit, ob beispielsweise in Lunge, Milz, Herzblut usw., anzutreffen sind, kann versucht werden, den Nachweis dafür zu erlangen, daß diese Mikroorganismen pathogener Natur sind und daß sie speziell die Ursache für die in Frage stehende Krankheit abgeben. Sie sind zu diesem Zwecke in Reinkulturen zu züchten, und wenn sie hierdurch von allen ursprünglich ihnen noch anhaftenden Bestandteilen des erkrankten Körpers befreit sind, wenn möglich auf dieselbe Tierespezies, bei welcher die Krankheit beobachtet wurde, oder doch auf solche Tiere zurückzupflanzen, bei welchen die fragliche Krankheit erfahrungsgemäß unter unverkennbaren Symptomen vorkommt. Um dies an einem Beispiel zu erläutern, erinnere ich an die Tuberkulose¹⁾. Zuerst wurde durch mikroskopische Untersuchung festgestellt, daß in den erkrankten Organen durch Farbenreaktionen scharf charakterisierte Bazillen vorkommen; dann wurden diese Bazillen in Reinkulturen isoliert, indem man von solchen Stellen ausging, wo sie nicht mit anderen Bakterien vermischt und durch diese verunreinigt vorkommen; zuletzt wurde durch die Rückimpfung solcher Reinkulturen auf möglichst zahlreiche Tiere der verschiedensten Arten, deren

et prononce, en allemand, l'allocution suivante, qui est immédiatement reproduite en français par M. Haltenhoff: „Ayant appris par le programme du Congrès que M. Pasteur parlerait aujourd'hui sur l'atténuation des virus, je me suis rendu à la séance dans l'espoir d'apprendre quelque fait nouveau sur un sujet qui m'intéresse à un si haut degré. Je dois avouer en ce moment que j'ai été déçu dans mon attente et qu'il n'y a dans la communication de M. Pasteur aujourd'hui rien de neuf. Je ne crois pas utile (zweckmäßig) de répondre ici aux attaques de M. Pasteur et cela pour deux raisons: d'abord, parce que les points en litige ne rentrent qu'indirectement dans le domaine de l'hygiène proprement dite et ensuite parce que ne sachant pas bien le français et M. Pasteur ne sachant pas assez l'allemand, nous ne pourrions engager ici une discussion fructueuse. Je me réserve de répondre à M. Pasteur par la voie des journaux médicaux.“ D. Herausgeber.

¹⁾ Diese Werke, p. 403. D. Herausgeber.

nel campo della ricerca sulle malattie infettive. Difficilmente basterà l'assicurazione che, nonostante io debba contraddire in molti punti Pasteur, non per questo io gli neghi il mio riconoscimento ai suoi significativi meriti legati alla scienza.

Una sostanziale differenza sta nei i metodi utilizzati da Pasteur e da me per la sperimentazione delle malattie infettive ed era inevitabile, anche solo per questa ragione, che nelle nostre ricerche sperimentali non arrivassimo a dei risultati divergenti.

Il mio punto di vista si caratterizza nel seguente modo: non è stato ancora dimostrato che le malattie infettive vengano condizionate da microrganismi parassitari e perciò, in ogni singolo caso, deve essere fornita la prova del carattere parassitario della malattia. Il primo passo verso questa prova è rappresentato dall'attento esame di tutte le parti del corpo, modificate dalla malattia, per accertare la presenza di parassiti, la loro distribuzione negli organi infetti e i loro rapporti verso i tessuti del corpo. Ovviamente, per questa analisi, sono da mettere in pratica tutti gli ausili offerti dalla tecnica microscopica moderna. Sono i tessuti e i loro liquidi, sangue, linfa, ecc, freschi con, o senza reagenti, ad essere esaminati microscopicamente, devono poi essere asciugati al vetrino di copertura e trattati con le diverse tecniche di colorazione; gli oggetti induriti sono da scomporre in sottili tagli, tramite il microtomo, anch'essi da colorare e, i preparati microscopici così ottenuti, da sottoporre ad un accurato esame microscopico, con l'utilizzo di metodi di illuminazione appropriati e con i migliori sistemi di lenti. Solamente dopo che, in questo modo, se ne abbia acquisito un adeguato orientamento, cioè se i microrganismi sono presenti nelle parti infette, in quali punti gli si incontra in totale purezza, ad esempio polmoni, milza, sangue, si può provare a fornire la prova che questi microrganismi sono di natura patogena e, specialmente, che rappresentano la causa della malattia posta in domanda. A tale scopo, sono da allevare allo stato puro e, se in tale modo risultano liberati da tutte le componenti originarie del corpo malato, si deve vaccinare possibilmente di nuovo la stessa specie animale, nella quale fu osservata la malattia, o anche certi animali in cui la malattia in questione presenta sintomi, per esperienza, inconfondibili. Per chiarire il tutto con un esempio, rievoco la tubercolosi³. Prima di tutto venne stabilito, tramite analisi microscopiche, che negli organi infetti si presentano bacilli fortemente caratterizzati dalle reazioni dei colori; in seguito questi bacilli furono isolati allo stato puro, mentre si concluse in quei punti, nei quali non si mischiarono con altri batteri e non si presentarono, da questi contaminati; infine, venne generata nuovamente la tubercolosi tramite la rivaccinazione allo stato puro su animali, il più possibile numerosi, delle specie più varie, la cui predisposizione a questa malattia sia nota.

³ Queste opere, p. 403. L'editore.

Empfänglichkeit für diese Krankheit bekannt ist, die Tuberkulose von neuem erzeugt. Ein zweites sehr lehrreiches Beispiel bildet das Erysipel des Menschen. Man wußte schon längere Zeit, daß bei dieser Krankheit in den Lymphgefäßen der Haut sich konstant Mikrokokken finden. Damit war allerdings noch nicht erwiesen, daß letztere die Ursache des Erysipels sind. Nachdem es aber Fehleisen vor kurzem gelungen ist, aus exzidierten Hautstücken von Erysipelkranken, unter allen Kautelen gegen eine Verunreinigung durch andere etwa zufällig auf der Hautoberfläche abgelagerte Bakterien, jene Mikrokokken in Reinkulturen zu züchten und durch Verimpfung derselben am Menschen selbst ein typisches Erysipel hervorzurufen, kann kein Zweifel mehr bestehen, daß die Mikrokokken in der Tat die Ursache des Erysipels sind und letzteres als eine parasitische Krankheit anzusehen ist.

Von dem Gang der Untersuchung, wie ich ihn soeben gekennzeichnet habe, und der mir der einzige dem jetzigen Stande der Wissenschaft entsprechende zu sein scheint, weicht Pasteur nicht unerheblich ab.

Zunächst geht Pasteur von der Überzeugung aus, daß alle Infektionskrankheiten parasitische, durch Mikroben bedingte Krankheiten sind, und er scheint die erste der von mir aufgestellten Bedingungen, den Nachweis der Mikroorganismen und die Orientierung über ihr Vorkommen im Körper, nicht für notwendig zu halten. Denn Pasteur macht beispielsweise keine Angabe darüber, ob er bei der Erforschung der von ihm als *nouvelle maladie de la rage* bezeichneten Krankheit die Organe des an Rabies verstorbenen Kindes, welches ihm zum Ausgangspunkt seiner Infektionsversuche diente, vor allen Dingen dessen Sublingualdrüsen auf das Vorhandensein spezifischer Mikroben mikroskopisch untersucht hat. Gerade in diesem Falle wäre doch eine solche Untersuchung unerläßlich gewesen, denn es ist bekannt, daß bei Rabies die Sublingualdrüsen den Infektionsstoff enthalten und daß also die vermuteten Mikroben, da das Gewebe der Sublingualdrüsen für gewöhnlich nicht der Sitz von Bakterien ist, hier noch am sichersten in voller Reinheit anzutreffen sein würden. Pasteur aber benutzte als Impfstoff, als er versuchen wollte, die Wutkrankheit von der Leiche jenes Kindes auf Tiere zu übertragen, nicht das Gewebe der Sublingualdrüsen, sondern den Speichel selbst, von welchem bekannt ist, daß er eine Unzahl der verschiedensten Bakterien und darunter auch, wie Vulpian (Bull. de l'Acad. 29. Mars 1881) und Steinberg (National Board of Health. Bulletin April 30 th. 1881) nachgewiesen haben, selbst bei gesunden Menschen pathogene Bakterien enthält. Ebenso verfährt Pasteur mit dem sogenannten typhösen Fieber der Pferde. Er untersucht nicht die ödematösen Schwellungen der Haut und des Darmes, nicht die geschwollene Milz; wir erfahren auch nicht, ob im Blute der erkrankten oder eben gestorbenen Tiere charakteristische Mikroben vorhanden sind. Pasteur begnügt sich damit, den aus der Nase eines verendeten Tieres abfließenden Schleim zu verimpfen, welcher ohne allen Zweifel ebenso wie der Speichel durch viele andere Bakterien verunreinigt ist.

Wenn man schon das Material, von welchem Pasteur ausgeht, nicht rein ist, und wenn es danach fraglich erscheinen muß, ob durch die Verimpfung solchen Stoffes die in Untersuchung stehende Krankheit überhaupt erzielt werden kann, so wird durch Pasteur der Erfolg des Experimentes dadurch noch mehr in Frage gestellt, daß er die Impfung nicht an einer notorisch für die Krankheit empfänglichen, sondern an der ersten besten Tierspezies, an Kaninchen vornimmt. Um überhaupt erst einmal zu erfahren, ob diese oder jene Substanz das Wutgift enthält, wird man sie doch zunächst nur auf Hunde verimpfen, und wenn eine ganz neue Pferdekrankheit ätiologisch zu erforschen ist und man nicht vorzieht, das Blut, die Milz oder dergleichen als Impfsbstanz zu wählen, sondern durchaus den durch andere Bakterien verunreinigten Nasenschleim benutzen will, dann

Un altro esempio molto formativo è rappresentato dall'erisipela dell'uomo. Si sapeva da tanto tempo che, per questa malattia, nei vasi linfatici cutanei si trovano costantemente micrococchi. Con ciò, tuttavia, non fu ancora dimostrato che, quest'ultimi, sono causa dell'erisipela. Però, dopo che da poco, a Fehleisen è riuscito, da parti di pelle in eccesso dei malati di erisipela, di allevare quei micrococchi allo stato puro, con massima cautela contro una contaminazione da altri batteri depositati casualmente sulla superficie cutanea, e di richiamare sull'uomo stesso una tipica erisipela tramite l'inoculazione degli stessi micrococchi, non rimane più nessun dubbio sul fatto che, i micrococchi sono in realtà la causa dell'erisipela e che, quest'ultima, sia da osservare come una malattia parassitaria.

Pasteur si discosta sensibilmente dal percorso di analisi, così come l'ho descritto poc'anzi e che, secondo me, pare l'unico maggiormente adeguato allo stato attuale della scienza. Innanzitutto, Pasteur parte dalla convinzione che, tutte le malattie infettive sono malattie parassitarie, condizionate da microbi e pare che, non ritenga necessaria la prima delle condizioni da me formulate, cioè la prova dei microrganismi e l'orientamento sulla loro comparsa nel corpo. Infatti, Pasteur non fornisce, ad esempio, nessuna indicazione precisa sul fatto, se nella sua analisi della malattia da lui definita "nouvelle maladie de la rage", gli organi del bambino morto di rabbia, il quale gli servì come punto di partenza per i suoi tentativi di infezione, e soprattutto le sue ghiandole sub-linguali, li abbia esaminati microscopicamente alla presenza di microbi specifici. Proprio in questo caso sarebbe stata indispensabile una tale analisi, poiché è noto che, in caso di rabbia, le ghiandole sub-linguali contengono la sostanza infetta e che i presunti microbi, poiché il tessuto delle ghiandole sub-linguali non è di norma la sede dei batteri, siano da incontrare qui sicuramente in piena purezza. Mentre Pasteur provò a trasferire la malattia della rabbia dalla salma di tale bambino agli animali, utilizzò però come sostanza inoculante non il tessuto delle ghiandole sub-linguali, bensì la saliva stessa, la quale è noto che contenga un'infinità di batteri e, come hanno constatato anche Vulpian (Bollettino dell'Accademia, 29 marzo 1881) e Steinberg (National board of Health, Bollettino del 30 aprile 1881), persino dei batteri patogeni nell'individuo sano. Allo stesso modo, Pasteur procede con la cosiddetta febbre tifica dei cavalli. Egli non analizza i rigonfiamenti endemici della pelle e dell'intestino, nemmeno la milza ingrossata; non apprendiamo nemmeno se, nel sangue degli animali malati o appena deceduti, siano presenti microbi caratteristici. Pasteur si limita a inoculare il muco che, fuoriuscente dal naso di un animale morto, è indubbiamente contaminato da tanti altri batteri, allo stesso modo della saliva.

Se quindi, già il materiale dal quale prende le mosse Pasteur non risulta chiaro e, in seguito, appare ovvio chiedersi se, attraverso l'inoculazione di questa sostanza, la malattia posta sotto esame potrà essere raggiunta, così tramite Pasteur, la riuscita dell'esperimento viene ancora maggiormente sottoposta a quesito, in quanto esegue la vaccinazione non su una specie animale notoriamente sensibile alla malattia, bensì sui conigli. Comunque, per scoprire se questa o quella sostanza contenga il veleno della rabbia, la si introduce certamente prima di tutto solo nei cani e, nel caso ci fosse da sperimentare eziologicamente una malattia dei cavalli totalmente nuova, e si preferisca non scegliere il sangue, la milza o simili come sostanza inoculante, bensì si voglia utilizzare il muco nasale contaminato da altri batteri, allora, come cavie, si dovrebbero utilizzare come minimo i cavalli e non i conigli, dei quali ancora nessun uomo sa se siano in grado di ammalarsi di febbre tifica dei cavalli e come gli si presentino i sintomi di questa nuova malattia.

sollte man doch wenigstens Pferde als Versuchstiere benutzen und nicht Kaninchen, von denen noch kein Mensch weiß, ob sie an dem typhösen Pferdefieber zu erkranken vermögen und wie sich die Symptome dieser neuen Krankheit etwa bei ihnen gestalten.

Die Folgen dieser von Pasteur eingeschlagenen Methode der Untersuchung zeigen sich denn auch in eklatanter Weise. Bei seinen Arbeiten über Milzbrand fand Pasteur das Terrain schon gebüet. Man kannte schon die Milzbrandbazillen, und der Nachweis, daß dieselben die Krankheitsursache sind, war schon geliefert. Pasteur hatte also nur mit gegebenen Tatsachen zu rechnen, und die Schwächen seiner Methode konnten sich deswegen nicht so auffallend wie bei späteren Gelegenheiten offenbaren. Auch die Hühnercholera fand Pasteur durch Perroncito und Toussaint soweit vorgearbeitet, daß er nicht leicht auf Abwege geraten konnte. Sobald aber Pasteur an eine ganz neue Frage herantrat und sich mit dem Kontagium der Hundswut beschäftigte, kam er infolge seiner fehlerhaften Methode sofort von seinem Ziel ab. Die Mikroben der Hundswut, welche man damals zu finden hoffte und anscheinend auch jetzt noch vergeblich sucht, fand Pasteur nicht; anstatt derselben wurden Bakterien gefunden, welche eine angeblich neue Krankheit verursachen sollten. Sieht man sich aber die „neue Krankheit“ etwas genauer an, dann erkennt man in ihr sehr bald die schon längst bekannte Kaninchensepticämie. Pasteur beschreibt den neuen Mikroben als von geringer Größe, etwas länglich, in der Mitte schwach eingeschnürt, so daß er in seinem Aussehen der Gestalt einer 8 sehr ähnlich ist. Die damit infizierten Kaninchen starben nach ungefähr 24 Stunden. Sowohl der Gestalt, als der pathogenen Wirkung an den geimpften Kaninchen nach können diese Mikroben keine anderen als diejenigen der Kaninchensepticämie sein, einer Krankheit, welche schon von Coze und Feltz und später von Davaine, zuletzt noch von Gaffky bei Gelegenheit seiner Arbeit über Septicämie, eingehend experimentell studiert wurde. Es ist eine eigentümliche Tatsache, welche sich beim weiteren Studium der pathogenen Bakterien immer bestimmter herausstellt, daß nämlich derjenige pathologische Prozeß, welchen wir mit dem Namen der Septicämie belegen, kein einheitlicher ist. Es gibt mehrere verschiedene pathogene Bakterien, welche bei bestimmten Tierspezies eine tödliche, unter den Symptomen der Septicämie verlaufende Krankheit bewirken. So kennen wir bereits eine durch äußerst feine Bazillen verursachte Septicämie der Mäuse, welche merkwürdigerweise Meerschweinchen niemals tötet und bei Kaninchen einen dem Erysipelas ähnlichen Prozeß erzeugt; auch eine dem Meerschweinchen eigentümliche, durch sehr kleine Mikrokokken bedingte Septicämie habe ich wiederholt beobachtet; außerdem ist die schon erwähnte Kaninchensepticämie mit ihren 8-förmigen Mikroben bekannt, welche schon vielfach durch Impfungen von Kaninchen mit den verschiedensten in Zersetzung befindlichen Substanzen erhalten ist. Man hat sie bis jetzt namentlich durch Verimpfungen von faulendem Blut, von Runstenwasser und ähnlichen faulenden Flüssigkeiten erhalten. Sternberg konnte diese Krankheit sogar regelmäßig mit seinem eignen Speichel, obwohl er sich vollkommener Gesundheit erfreute, erzeugen und er hat sehr charakteristische photographische Abbildungen der 8-förmigen Mikroben veröffentlicht, welche er durch Verimpfung seines Speichels erhielt. Jedem Experimentator, welcher sich mit Infektionsversuchen an Kaninchen beschäftigt, müssen diese Verhältnisse bekannt sein, wenn er nicht in Irrtümer verfallen will. Pasteur hat dieselben nicht gekannt oder unbachtet gelassen, sonst würde er nicht mit einer an Mikroben so reichen Flüssigkeit, wie der Speichel einer Leiche ist, Impfungen an Kaninchen, anstatt wie es in seinem Falle das einzig Richtige gewesen wäre, an Hunden, welche für septicämische Infektion sehr wenig empfänglich sind, angestellt und vor allem würde er nicht eine schon längst bekannte Krankheit als „nouvelle maladie“ bezeich-

Gli effetti di questo metodo di analisi adottato da Pasteur si mostrano poi anche in maniera eclatante. Per i suoi lavori sul carbonchio, Pasteur trovò il terreno già spianato. Si conoscevano già i bacilli del carbonchio, e la prova, che questi ultimi sono la causa della malattia, fu già data. Pasteur quindi ebbe da fare i conti solamente con dati di fatto, e i punti deboli del suo metodo non potevano mostrarsi perciò così notevolmente come in circostanze future. Anche per il colera dei polli, Pasteur trovò il lavoro già svolto da Perroncito e Toussaint, in modo che non fu difficile per lui non smarrire la retta via. Ma, non appena Pasteur si avvicinò ad una domanda totalmente nuova, e si occupò del contagio della rabbia canina, si discostò immediatamente dal suo obiettivo, proprio a causa del suo metodo errato. I microbi della rabbia canina, che in passato si speravano di trovare e, a quanto pare, ancora oggi si cercano inutilmente, Pasteur non li trovò; al loro posto furono trovati batteri che, presumibilmente, avrebbero causato una nuova malattia. Ma, se si osserva meglio la “nuova malattia”, allora vi si riconoscerà presto la già ben nota setticemia dei conigli. Pasteur descrive il nuovo microbo come di grandezza lieve, un po’ allungato, leggermente stretto al centro, così che, all’apparenza, sia simile all’aspetto di un 8. I conigli, in tale modo infettati, morirono dopo circa 24 ore. Sia in base all’aspetto, che all’effetto patogeno sui conigli vaccinati, questi microbi non possono essere altri che quelli della setticemia dei conigli, una malattia già studiata sperimentalmente da Coze e Feltz, più tardi da Davaine e infine da Gaffky, in occasione del suo lavoro sulla setticemia. E’ un fatto strano quello che emerge, in modo sempre più determinante, dal successivo studio nei batteri patogeni, cioè che quel processo patologico, che documentiamo con il nome di setticemia, non sia

unitario. Ci sono numerosi batteri patogeni diversi che, in determinate specie animali, provocano una malattia mortale con i sintomi della setticemia. Così conosciamo già una setticemia dei topi, causata da bacilli estremamente piccoli, che stranamente non uccide mai i porcellini d’india e che, nei conigli, provoca un processo simile all’erisipela; ho osservato ripetutamente anche una setticemia propria del porcellino d’india, causata da micrococchi molto piccoli; inoltre, la già citata setticemia dei conigli è, con i suoi microbi a forma di 8, nota, poiché è stata ottenuta molte volte tramite vaccinazioni di conigli, con le più svariate sostanze in decomposizione. Fino ad ora la si è ottenuta soprattutto tramite inoculazioni di sangue imputridito, di acqua dei canaletti di scolo e di simili liquidi imputriditi. Sternberg poteva generare regolarmente questa malattia addirittura con la sua stessa saliva, nonostante godesse di ottima salute, e ha pubblicato delle raffigurazioni fotografiche molto caratteristiche dei microbi a forma di 8, che è riuscito ad ottenere tramite l’inoculazione della sua stessa saliva.

net haben. Ganz unbegreiflich erscheint es allerdings, daß Pasteur, durch die Erfahrungen in diesem Falle nicht belehrt, neuerdings bei seiner Untersuchung über den Pferdetyphus in denselben Fehler gefallen ist. Es hat doch gewiß für die ätiologische Erforschung dieser Krankheit gar kein Interesse zu erfahren, daß nach Impfung mit dem Nasenschleim des toten Tieres ein Kaninchen in ziemlich kurzer Zeit stirbt; denn geradeso wie Kaninchen durch Impfung mit dem Speichel eines gesunden Menschen getötet werden können, so würde dies vermutlich auch nach der Impfung eines in Zersetzung begriffenen Nasenschleims von einem an irgendeiner beliebigen Krankheit gestorbenen Pferde der Fall sein. Man hätte doch zunächst feststellen müssen, ob nicht auch die Impfung mit dem Nasenschleim anderer Pferde oder selbst gesunder Pferde Kaninchen tötet. Alles dies wurde versäumt, und ein neckischer Zufall hat es gefügt, daß auch hier wieder der verhängnisvolle 8-förmige Mikrobe, welcher Kaninchen in ungefähr 24 Stunden tötet, zum Vorschein gekommen ist. Daß es sich auch hier wieder um dieselbe Kaninchen-septicämie handelt, welche mit der von Davaine beschriebenen und von Pasteur als nouvelle maladie bezeichneten Krankheit identisch ist, kann für den Kenner der Tierinfektionskrankheiten keinen Augenblick zweifelhaft sein. Eigentlich konnte es auch nicht anders kommen, denn das Kaninchen reagiert nun einmal, wie wir wissen, auf Impfungen mit derartigen Flüssigkeiten, sobald sie diese spezifischen Bakterien enthalten, durch Septicämie. Ich zweifle nicht, daß Pasteur, wenn er in dieser Weise fortfährt und in Zersetzung begriffene tierische Flüssigkeiten auf Kaninchen verimpft, noch mehrfach dem 8-förmigen Mikroben der Kaninchen-septicämie begegnen und Gelegenheit finden wird, denselben der Akademie oder einem Kongreß als höchst interessante und eminent wichtige Entdeckung vorzuführen. Aber auch gesetzt den Fall, daß die Verimpfung des Pferdenasenschleims eine von den bisher bekannten künstlichen Infektionskrankheiten der Kaninchen abweichende Form ergeben hätte, so müßte ich dies trotzdem für eine Entdeckung von so untergeordneter Bedeutung halten, daß sie nicht dazu angetan ist, um einem internationalen Kongreß als wichtiger Gegenstand mitgeteilt zu werden. Gelegentlich der ätiologischen Untersuchungen, welche im Kaiserlichen Gesundheitsamte bisher ausgeführt wurden, sind allmählich gegen zehn verschiedene künstliche Tierinfektionskrankheiten aufgefunden, welche nicht durch 8-förmige Mikroben, sondern durch charakteristisch geformte und ganz eigentümliche pathologische Prozesse bedingende Bakterienarten erzeugt werden. Es schien uns indessen weit mehr die pathogenen Mikroorganismen der natürlich vorkommenden Infektionskrankheiten das Interesse zu beanspruchen, als daß wir jeden einzelnen dieser Funde zum Gegenstand einer ausführlichen Veröffentlichung zu machen für gut befunden hätten.

Die von Pasteur befolgten Methoden müssen also, wie auseinandergesetzt wurde, wegen des Mangels der mikroskopischen Untersuchung, wegen der Verimpfung unreiner Substanzen und der Benutzung ungeeigneter Versuchstiere als fehlerhaft bezeichnet werden und können nicht zu zuverlässigen Resultaten führen. Wenn nun Pasteur ferner sich bei der Deutung der in seinen Experimenten erhaltenen Ergebnisse vom Vorurteil beeinflussen läßt und zu wunderbaren Vorstellungen über die an den Versuchstieren gefundenen Krankheits- und Leichenerscheinungen kommt, so darf ihm hieraus allerdings weniger ein Vorwurf gemacht werden. Pasteur ist eben kein Arzt und man kann von ihm nicht verlangen, daß er pathologische Prozesse und Krankheits-symptome richtig beurteilt. Um so mehr wäre es aber Pflicht seiner ärztlichen Mitarbeiter gewesen, ihn vor so groben Irrtümern zu bewahren, wie sie in der Auffassung der Kaninchenkrankheit zutage treten, die durch Verimpfung des Nasenschleims von Pferden erhalten wurde. Diese Pferdekrankheit gehört nach den Unter-

Ad ogni sperimentatore, che si occupa di tentativi di infezioni sui conigli, devono essere note queste condizioni, se non vuole cadere in errori. Pasteur non le conosceva oppure le ha lasciate inosservate, altrimenti non avrebbe effettuato vaccinazioni ai conigli, con un liquido pieno di microbi come lo è la saliva di una salma, anziché ai cani, i quali sono molto meno sensibili alle infezioni setticemiche, e soprattutto non avrebbe definito come “nouvelle maladie” una malattia già nota da tempo. Del tutto incomprensibile appare tuttavia che Pasteur, in questo caso, non abbia imparato dall’esperienza e che sia ricaduto nello stesso errore durante il suo esame sul tifo dei cavalli. Per la ricerca eziologica di questa malattia non ha certamente nessuna importanza apprendere che, in seguito alla vaccinazione con muco nasale dell’animale morto, un coniglio muore in un arco di tempo estremamente breve; poiché, così come i conigli possono essere uccisi tramite vaccinazione con la saliva di una persona sana, allo stesso modo potrebbe probabilmente accadere in seguito alla vaccinazione con muco nasale in fase di decomposizione di un cavallo morto di una qualunque malattia. In seguito, si sarebbe dovuto accertare se, anche le vaccinazioni con il muco nasale di altri cavalli, o addirittura di cavalli sani, avrebbero ucciso i conigli. Tutto ciò fu lasciato passare e, una strana coincidenza ha fatto sì che, anche qui si presentasse nuovamente il fatidico microbo a forma di 8, che uccide i conigli in circa 24 ore. Che si tratti anche qui nuovamente della setticemia dei conigli, identica alla malattia descritta da Davaine e identificata da Pasteur come “nouvelle maladie”, non può, dai conoscitori delle malattie infettive animali, assolutamente essere messo in dubbio. In realtà, non poteva essere nemmeno diversamente dato che, come sappiamo, il coniglio reagisce alle vaccinazioni con tale tipo di liquidi, non appena contiene questi batteri specifici, tramite la setticemia. Non dubito del fatto che, se Pasteur prosegue in questo modo e inietta ai conigli dei liquidi animali in fase di decomposizione, incontrerà ancora molte volte il microbo a forma di 8 della setticemia dei conigli, e troverà il modo di presentarlo all’Accademia o ad un congresso, come la scoperta maggiormente interessante e altamente importante. Ma anche ammesso che, la vaccinazione con il muco nasale del cavallo avesse dato vita ad una forma divergente dalle malattie infettive dei conigli finora conosciute, la dovrei comunque ritenere come una scoperta di importanza talmente minima, da non essere appropriata per essere comunicata ad un congresso internazionale come una materia importante. In occasione delle ricerche eziologiche, condotte fino ad ora nell’ufficio di igiene imperiale, sono state scoperte circa dieci malattie infettive artificiali degli animali, prodotte non da microbi a forma di 8, bensì da tipi di batteri determinati da processi patologici del tutto strani e formati in maniera caratteristica. Ci parve nel frattempo che attirassero maggiormente l’interesse i microrganismi patogeni delle malattie infettive a comparsa naturale, tanto da giudicare positivamente il fatto di fare di ognuna di queste singole scoperte l’oggetto di una pubblicazione dettagliata.

I metodi seguiti da Pasteur, come è stato illustrato, devono dunque essere definiti imprecisi e non possono portare a dei risultati attendibili, a causa dell’imperfezione nell’analisi microscopica, dell’inoculazione di sostanze impure e l’utilizzo di cavie non adatte. Se Pasteur, riguardo all’interpretazione dei risultati contenuti nei suoi esperimenti, si facesse influenzare dal pregiudizio e arrivasse a formulare meravigliosi concetti sui fenomeni riscontrati nelle malattie e nei corpi delle cavie, gli si potrebbe quindi fare un rimprovero minore a tal proposito. Pasteur non è appunto un medico e non gli si può pretendere che valuti correttamente i processi patologici e i sintomi delle malattie. Per lo più, sarebbe stato obbligo dei suoi collaboratori medici proteggerlo da errori così gravi, come emersero dalla concezione della malattia dei conigli, ottenuta dall’inoculazione del muco nasale dei cavalli.

suchungen von Schütz zur Gruppe der erysipelatösen Prozesse und hat mit dem menschlichen Typhus absolut nichts zu tun. Auch die Krankheit, welche die Impfung des Nasenschleims hervorruft, ist, wie bereits erwähnt wurde, wegen der charakteristischen Form des Mikroben „en huit“ und der schnell tödlichen Wirkung dieses Parasiten identisch mit der gewöhnlichen Kaninchensepticämie und hat gar keine Beziehungen zum Typhus. Pasteur scheint aber, durch die Ähnlichkeit des zufällig gewählten Namens „Pferdetyphus“ verführt, sich unter derselben eine echt typhöse, möglicherweise sogar eine dem Abdominaltyphus nahestehende oder selbst identische Krankheit vorzustellen, denn er hebt mit besonderem Nachdruck hervor, daß die infizierten Kaninchen geschwollene Peyer'sche Drüsen und zwar vorzugsweise in der Nachbarschaft der Ileocökalklappe gehabt hätten und daß die Tiere in weniger als 24 Stunden an einem véritable fièvre typhoïde gestorben seien. Wie man dieses noch nicht einmal 24 Stunden dauernde Fieber als ein typhöses diagnostiziert hat, ist nicht angegeben; aber auch ohne weitere Erklärungen klingt die ganze Sache im höchsten Grade wunderbar, da man bis jetzt weder ein typhöses Fieber des Kaninchens, noch überhaupt ein eintägiges typhöses Fieber kennt. Dieser eintägige Kaninchentyphus gehört mit der eintägigen Kaninchen-Hundswut von Lancelongue und Reynaud und der schon einen Tag nach der Impfung durch Bazillen im Blute sich manifestierenden Schweinesyphilis, welche von Martineau und Hamonic kürzlich beschrieben ist, zu denjenigen Dingen, welche mit allen Erfahrungen und mit den herrschenden Anschauungen der Wissenschaft in grellestem Widerspruch stehen und nur geeignet sind, das Vertrauen, welches die ätiologische Forschung sich allmählich zu erwerben beginnt, wieder zu zerstören. Es würde deswegen nur dem Gedeihen dieses jungen Zweiges der Wissenschaft förderlich sein, wenn derartige Irrtümer möglichst bald berichtigt oder der Vergessenheit anheimgegeben würden, und es ist zu verwundern, daß eine so gut redigierte Zeitschrift wie die Annales d'hygiène publique in einer ihrer letzten Nummern (Nr. 9, S. 301) allen Ernstes berichtet, daß Pasteur die Typhusbakterien kultiviert habe, was in dieser Passung bei allen Lesern die Meinung erwecken muß, als ob es sich um die Bakterien des wirklichen Typhus, d. h. des Abdominaltyphus, dabei handle.

Pasteur hat sich in seinem Genfer Vortrag bitter darüber beklagt, daß ich seine mikroskopischen Leistungen und seine Impfmethode für unvollkommen erklärt habe. Aber nach dem, was wir über seine Impfungen mit Speichel und Nasenschleim an Kaninchen und seine wiederholten Entdeckungen des Mikroben en huit erfahren haben, kann ich zu meinem lebhaften Bedauern mein Urteil, wenigstens vorläufig, noch nicht ändern.

Pasteur hat indessen nicht allein durch die Mangelhaftigkeit seiner Methoden, sondern auch durch die Art und Weise, wie er seine Untersuchungen publiziert, die Kritik herausgefordert. Bei industriellen Unternehmungen mag es erlaubt sein und ist gewiß oft durch das Geschäftsinteresse geboten, das Verfahren, welches zur einer Entdeckung führte, geheim zu halten. In der Wissenschaft herrscht aber ein anderer Brauch. Wer von der wissenschaftlichen Welt Glauben und Vertrauen beansprucht, der hat die Pflicht, die von ihm befolgten Methoden so zu veröffentlichen, daß ein jeder in den Stand gesetzt wird, jene Angaben auf ihre Richtigkeit zu prüfen. Dieser Verpflichtung ist Pasteur nicht nachgekommen. Schon bei seiner Publikation über die Hühnercholera hat er seine Methode der Abschwächung lange Zeit verheimlicht und schließlich nur auf das entschiedene Drängen von Colin sich zur Bekanntmachung derselben entschlossen. Dasselbe hat sich bei der Abschwächung des Milzbrandvirus wiederholt; denn die Mitteilungen, welche Pasteur bis jetzt über die Bereitung der beiden Impfstoffe gemacht hat, sind so unvollkommen, daß es unmöglich ist, ohne weiteres sein Verfahren zu wiederholen und zu prüfen. Wer so verfährt, der darf sich nicht beklagen, wenn er in wissen-

Questa malattia dei cavalli appartiene, secondo le analisi di Schütz, al gruppo dei processi erisipelatosi e non ha assolutamente nulla a che vedere con il tifo umano. Anche la malattia che causa la vaccinazione con muco nasale è, come è stato appena detto, identica alla solita setticemia dei conigli, a causa della forma caratteristica a "8" del microbo e del veloce effetto mortale di questo parassita, e non ha nessun legame con il tifo. Pasteur però, sedotto dalla somiglianza del nome "tifo dei cavalli" casualmente scelto, pare si immagini una malattia veramente tifica simile, o addirittura identica, al tifo addominale poiché evidenzia, con particolare enfasi, che i conigli infetti avrebbero avuto le ghiandole di Peyer ingrossate, soprattutto vicino alla valvola ileocecale, e che gli animali, in meno di 24 ore, sarebbero morti di una vera e propria febbre tifica. In quale modo questa febbre, della durata di nemmeno 24 ore, sia stata diagnosticata come febbre tifica, non è stato dichiarato; ma, anche senza ulteriore spiegazione, tutta la faccenda ha un grado fantascientifico molto elevato dato che, fino ad ora, non si conosce né la febbre tifica del coniglio, tanto meno la febbre tifica della durata di un giorno. Questo tifo dei conigli "giornaliero" appartiene, insieme alla rabbia "giornaliera" dei conigli, e dei cani, di Lannelongue e Raynaud, e alla sifilide suina, manifestatasi con bacilli nel sangue già un giorno dopo la vaccinazione, e brevemente descritta da Martineau e Hamonie, a quelle cose che stanno in contrasto con tutte le esperienze e le osservazioni correnti della scienza, e indicate solamente a distruggere la fiducia, che la ricerca eziologica sta cercando gradualmente di conquistarsi. Gioverebbe perciò al progresso di questo giovane ramo della scienza se, certi errori, venissero presto chiariti o affidati all'oblio, ed è sorprendente che, una rivista così ben redatta come gli "Annali di igiene pubblica", in uno dei suoi ultimi numeri (n° 9, p. 301), riporti in tutta serietà che, Pasteur abbia coltivato i batteri del tifo, suscitando con quella stesura il parere di tutti i lettori, come se si trattasse dei batteri del vero tifo, cioè del tifo addominale.

Nella sua conferenza di Ginevra, Pasteur si è lamentato amaramente del fatto che io abbia definito imperfetti i suoi metodi di vaccinazione e le sue prestazioni microscopiche. Ma, dopo ciò che abbiamo appreso sulle sue vaccinazioni con la saliva e il muco nasale sui conigli, e sulle sue ripetute scoperte del microbo a forma di otto, non posso, con mio grande rammarico, almeno per ora cambiare il mio parere.

Pasteur però ha provocato la critica, non solo con l'imperfezione dei suoi metodi, ma anche con la tipologia e la modalità di pubblicazione delle sue ricerche. Nelle operazioni industriali è spesso opportuno, per l'interesse affaristico, tener segreto il metodo che portò ad una scoperta. Nella scienza però, regna un'altra usanza. Chi ottiene conoscenza e fiducia dal mondo scientifico ha l'obbligo di pubblicare i metodi da lui eseguiti, in modo che chiunque possa venir messo nella condizione di poter verificare la veridicità di tali dati. Questo impegno Pasteur non l'ha onorato. Già nel caso della sua pubblicazione sul colera dei polli ha tenuto nascosti per lungo tempo i suoi metodi sull'indebolimento e si è infine deciso a renderli pubblici solo sotto la costante pressione da parte di Colin. Lo stesso si è ripetuto nel caso dell'attenuazione del virus del carbonchio; infatti, le comunicazioni fatte da Pasteur fino ad ora sulla preparazione di entrambe le sostanze inoculanti sono talmente incomplete, che è impossibile ripetere e verificare il suo metodo senza nient'altro.

schaftlichen Kreisen dem Mißtrauen und einer scharfen Kritik begegnet. Die Wissenschaft hat hierzu um so mehr Berechtigung, als andere Forscher auf demselben Gebiete, wie *Toussaint* und *Chauveau*, ihre Methoden ohne irgendwelchen Rückhalt veröffentlicht haben und in dieser Beziehung einen wohlthuenden Gegensatz zu *Pasteur* bilden.

Nach diesen Auseinandersetzungen, welche zeigen, daß Grund genug vorhanden ist, um die Angaben *Pasteurs* einer strengen Kritik zu unterziehen, gehe ich auf die Besprechung der zwischen *Pasteur* und mir bestehenden hauptsächlichsten Streitfragen selbst über. Dieselben beziehen sich in erster Linie auf die Milzbrandätiologie und sodann auf die Frage nach der Abschwächung des Milzbrandvirus und die künstliche Immunität gegen Milzbrand.

Was zunächst die Milzbrandätiologie betrifft, so kann ich mich hierüber um so kürzer fassen, als *Pasteur* die Einwände, welche von mir gegen seine Auffassung von der Milzbrandätiologie erhoben sind, nicht in einem einzigen Punkte durch Tatsachen zu entkräften versucht hat, sondern sich in allgemeinen Phrasen ergeht, welche an der Sache natürlich nichts ändern. In der Wissenschaft entscheiden bekanntlich die Tatsachen, aber nicht schöne und wohlgesetzte Reden.

Pasteur ist der Meinung, daß er die Ätiologie des Milzbrandes entdeckt habe, welche bekanntlich nur durch die Kenntnis der Dauersporen der Milzbrandbazillen sowie der Bedingungen ihres Entstehens, ihrer Eigenschaften und Beziehungen zum Boden, Wasser usw. begründet werden konnte. Obwohl ich kein Freund von Prioritätsstreitigkeiten bin, so liegen in diesem Falle die Verhältnisse doch zu offenbar, als daß ich mit Stillschweigen darüber hinweggehen könnte, und ich habe den *Pasteur*-schen Ansprüchen nur entgegnenzuhalten, daß meine Publikation, in welcher nicht nur die Bildung der Milzbrandsporen, sondern auch alle ihre Beziehungen zur Ätiologie des Milzbrandes dargelegt sind, im Jahre 1876 erschienen ist. *Pasteur* hat zum erstenmal über Milzbrand im Jahre 1877 etwas veröffentlicht, also ein Jahr später. Eines weiteren Wortes scheint mir diese Angelegenheit nicht zu bedürfen.

Pasteur stellte dann die Behauptung auf, daß Vögel wegen der hohen Temperatur ihre Blutes immun gegen Milzbrand seien, aber durch permanente Abkühlung um einige Zentigrade für Milzbrand empfänglich gemacht werden könnten. Um diesen Satz zu beweisen, nagelte er Hühner auf ein Brett, welches in kaltes Wasser getaucht wurde. Gegen die Beweiskraft dieses Versuches hatte ich geltend gemacht, daß Hühner nicht vollständig immun seien, sondern, wie die Versuche *Oemlers* beweisen, nicht selten (11mal unter 31 Impfungen) an Milzbrand erkranken können und daß außerdem andere Vögel, z. B. Sperlinge, trotz ihrer hohen Bluttemperatur ausnahmslos durch die Impfung milzbrandig zu machen sind. *Pasteur* wirft mir nunmehr vor, daß ich sein Experiment der Hühnerabkühlung doch wenigstens hätte wiederholen sollen, ehe ich die Richtigkeit desselben bestritte. *Pasteur* hat mich hier offenbar mißverstanden, denn ich habe nicht das Tatsächliche in seinem Experiment, sondern die Deutung desselben für unrichtig erklärt und muß auch ferner bei dieser Erklärung stehenbleiben. Denn es reagieren, wie gesagt, andere Vögel trotz ihrer hohen Bluttemperatur prompt auf die Milzbrandimpfung, wovon ich mich durch vielfache eigene Versuche überzeugt habe, außerdem sind aber auch das Aufnageln der Hühner und das Eintauchen derselben in Wasser so schwere Eingriffe in die Lebensbedingungen dieser Tiere, daß nicht allein die Abkühlung auf dieselben wirkt, sondern auch andere vermutlich noch intensivere Störungen zur Geltung kommen, welche sie möglicherweise für die Infektion mit Milzbrand empfänglich machen. Ich erinnere nur daran, daß bei den Präventivimpfungen gewöhnlich die schwächlichen Tiere starben, daß also auch ohne Abkühlung

Chi procede in tale modo non deve lamentarsi se incontra diffidenza e una forte critica nei circoli scientifici. La scienza ha a questo proposito più diritti, di quanti ne abbiano altri ricercatori nello stesso ambito, come Toussaint e Chaveau, che hanno pubblicato i loro metodi senza avere peli sulla lingua e rappresentano in questa circostanza un piacevole contrasto a Pasteur.

Dopo questi confronti, i quali mostrano che c'è motivo sufficiente per sottoporre i dati di Pasteur ad una severa critica, passo alla discussione sui principali motivi di lite esistenti tra me e Pasteur. Questi riguardano in primo luogo l'eziologia del carbonchio e secondariamente la domanda sull'attenuazione del virus del carbonchio e l'immunità artificiale contro il carbonchio. Per quanto riguarda l'eziologia del carbonchio, me ne posso occupare molto più brevemente, di quanto abbia fatto Pasteur che, anziché cercare di indebolire in un unico punto e con dei fatti precisi le obiezioni da me mosse contro le sue concezioni sull'eziologia del carbonchio, si dilungò invece in frasi generali, che non cambiavano nulla alla faccenda. Nella scienza, fino a prova contraria, sono decisivi i fatti e non i bei discorsi ben formulati.

Pasteur è del parere che abbia scoperto l'eziologia del carbonchio, la quale notoriamente poteva essere motivata solo con la conoscenza delle spore permanenti dei bacilli del carbonchio, ma anche con la conoscenza della condizione per la sua formazione, delle sue caratteristiche e i suoi rapporti con il terreno, l'acqua, ecc... Benché non sia un amante dei litigi a priori, in questo caso mi pare ci siano condizioni ben evidenti da non poterci passare sopra in silenzio, e ho da obiettare alle pretese di Pasteur solo il fatto che la mia pubblicazione, nella quale compare non solo la formazione delle spore del carbonchio, bensì anche ogni suo rapporto con l'eziologia del carbonchio, è apparsa nel 1876. Pasteur ha pubblicato qualcosa sul carbonchio solamente nel 1877, e cioè un anno dopo. Mi pare che questa questione non necessiti di ulteriori parole.

Pasteur avanzò poi la tesi che gli uccelli, a causa della loro elevata temperatura, sono immuni dal carbonchio ma che, tramite raffreddamento permanente di alcuni gradi, potrebbero essere predisposti al carbonchio. Per dimostrare tale affermazione, inchiodò delle galline ad una tavola, che poi fu immersa nell'acqua fredda. Contro il valore probatorio di questo esperimento ho fatto valere il fatto che, le galline non fossero completamente immuni ma, come dimostrano gli esperimenti di Oemlers, si possono ammalare spesso di carbonchio (11 volte su 31 vaccinazioni) e che, oltretutto, altri uccelli come i passeri, nonostante la loro elevata temperatura sanguigna, siano unanimemente soggetti ad ammalarsi di carbonchio tramite l'inoculazione. Pasteur mi rimprovera che, prima di contestare la veridicità del suo esperimento sul raffreddamento delle galline, avrei dovuto almeno ripeterlo. Pasteur mi ha in questo chiaramente frainteso, poiché non ho indicato come sbagliato l'esperimento effettivo, ma la sua interpretazione e dovrò stare fermo su questa posizione anche in futuro. Infatti, come detto, altri uccelli reagiscono immediatamente alla vaccinazione del carbonchio, nonostante la loro elevata temperatura sanguigna, e di questo me ne sono reso conto attraverso numerosi esperimenti personali e inoltre, anche l'inchiodare le galline e l'immergerle nell'acqua, sono operazioni così pesanti per le condizioni di vita di questi animali che, solamente il raffreddamento degli stessi non ha effetto ma, assumono importanza anche altri disturbi, presumibilmente più intensivi, che li rendono forse più predisposti all'infezione da carbonchio.

eine herabgesetzte Lebensenergie die Tiere empfänglicher für die Wirkung des Milzbrandgiftes macht. Ähnlich kann es sich auch mit den angenagelten Hühnern verhalten. Auf jeden Fall ist der Versuch nicht rein, er kann das nicht beweisen, was Pasteur damit beweisen will, und ich fühle deswegen keine Veranlassung, dieses nutzlose Experiment zu wiederholen.

Eine viel wichtigere Meinungsverschiedenheit besteht über das Zustandekommen der natürlichen Infektion. Pasteur nimmt an, daß sich in den verscharrten Milzbrandkadavern die Sporen bilden, daß letztere durch die Regenwürmer an die Oberfläche gebracht werden und mit dem Staub auf das Futter gelangen. Das Futter muß nach Pasteur, wenn eine Infektion zustande kommen soll, stachelig sein und die Tiere im Maule verletzen. Die Infektion geschieht dann durch eine Art Impfung von der Maulhöhle aus, und Pasteur will dies durch die Beobachtung beweisen, daß regelmäßig bei spontan an Milzbrand gefallen Tieren die Unterkieferdrüsen, als die der Infektionsstelle zunächst gelegenen, geschwollen seien. Dem habe ich folgendes entgegenzuhalten: Nach meinen Beobachtungen können sich auch unabhängig vom Tierkörper die Milzbrandbazillen auf abgestorbenen Pflanzenresten vermehren und ihre Sporen bilden. Sie leben daher vermutlich in sumpfigen Gegenden an der Erdoberfläche, und die Erfahrung lehrt, daß sehr häufig Tiere an solchen Stellen, wo niemals Milzbrandkadaver verscharrt wurden, infiziert werden. Das Vorkommen der Milzbrandsporen und die Gefahr der Infektion ist also nicht allein auf die Milzbrandkadaver, wie Pasteur meint, beschränkt. Damit wäre schon die Tätigkeit der Regenwürmer bei der Verbreitung des Milzbrandes überflüssig. Gegen die Bedeutung, welche Pasteur den Regenwürmern zuschreibt, sprechen aber auch noch andere gewichtige Bedenken, nämlich die niedrige Bodentemperatur in manchen Ländern, in denen der Milzbrand, wie z. B. in Sibirien, die bedeutendsten Verheerungen anrichtet. Außerdem habe ich direkte Versuche mit Regenwürmern in Erde, welche zahlreiche Milzbrandsporen enthielt, angestellt und bin zu Resultaten gekommen, welche die Annahme Pasteurs nicht bestätigen. Auch die Behauptung, daß die natürliche Infektion stachelige Beschaffenheit des Futters und kleine Verletzungen in der Maulhöhle voraussetze, muß ich bestreiten auf Grund eigener Versuche, auf welche ich später zurückkomme, wenn ich die Frage erörtern werde, ob die künstliche Immunität auch gegen die natürliche Infektion Schutz verleiht.

Ich wende mich nunmehr zur Besprechung der Abschwächung des Milzbrandvirus und der damit zu erzielenden künstlichen Immunität.

Als bekannt darf ich voraussetzen, daß Pasteur zuerst Versuche über die Abschwächung der Hühnercholeraeramikroben angestellt und hierbei die Überzeugung gewonnen hatte, daß die Abschwächung eine Wirkung des Luftsauerstoffes sei. Er übertrug alsdann seine Erfahrungen auf die Milzbrandbazillen und es gelang ihm, diese ebenfalls in ihrer Wirkung so abzuschwächen, daß damit geimpfte Tiere die Infektion überstanden und infolge dieser vorhergehenden Impfung späteren Infektionen mit dem stärksten Milzbrandgift gegenüber sich immun erwiesen.

Um die Tiere indessen gegen die Impfung mit unabgeschwächtem Virus ohne zu große Verluste immun zu machen, bedurfte es, wie Pasteur fand, einer zweimaligen Schutzimpfung, nämlich einer solchen mit einem sehr stark abgeschwächten, als premier vaccin bezeichneten Stoff und einer zweiten mit dem weniger abgeschwächten deuxième vaccin.

Schon bei den ersten Erfolgen mit der Hühnercholera hatte Pasteur sich den weitgehendsten Hoffnungen hingegeben, und nachdem es nun gar gelungen war, eine kleine Zahl von Schafen durch Präventivimpfungen gegen Milzbrand immun zu machen,

Voglio ricordare solamente che, nei casi di vaccinazioni preventive, morirono solitamente gli animali deboli e che, anche senza raffreddamento, un'energia vitale ridotta rende gli animali più predisposti all'effetto del veleno del carbonchio. In maniera simile stanno le cose anche con le galline inchiodate. In ogni caso, l'esperimento non è corretto: non è in grado di dimostrare ciò che Pasteur vuole con esso dimostrare e perciò, non vedo motivo per ripetere questo esperimento insensato.

Una divergenza di opinione ben più importante riguarda la formazione dell'infezione naturale. Pasteur asserisce che, le spore si formano nelle carogne, di animali morti di carbonchio, sotterrate e che affiorano alla superficie del terreno tramite i lombrichi, finendo così con la polvere sul mangime. Affinché si manifesti l'infezione, secondo Pasteur, il mangime deve essere aculeato e ferire gli animali nel muso. L'infezione avviene allora tramite una sorta di vaccinazione della cavità orale, e Pasteur vuole provarlo con l'osservazione che, negli animali morti spontaneamente di carbonchio, le ghiandole della mandibola inferiore, in quanto quelle più vicine alla zona dell'infezione, sarebbero ingrossate. Ho da obiettargli quanto segue: in base alle mie osservazioni, indipendentemente dal corpo dell'animale, i bacilli del carbonchio possono proliferare sui resti di piante morte e formare così le loro spore. Essi vivono allora presumibilmente in zone paludose della superficie terrestre e, l'esperienza insegna che, pur non essendoci sotterrati cadaveri di animali morti di carbonchio, numerosi animali vengono infettati. Il manifestarsi di spore di carbonchio e il pericolo dell'infezione non si basano quindi solo sui cadaveri di animali morti di carbonchio, come afferma Pasteur. Ai fini della propagazione del carbonchio, già l'attività dei lombrichi vi sarebbe superflua. Contro il significato che Pasteur assegna ai lombrichi parlano anche altre importanti considerazioni, come la bassa temperatura del suolo in alcune nazioni, nelle quali, come ad esempio in Siberia, il carbonchio provoca le più importanti devastazioni. Inoltre, ho effettuato esperimenti diretti con i lombrichi sulla terra, che conteneva numerose spore di carbonchio, e sono arrivato a risultati che non confermano la teoria di Pasteur. Per via di alcuni esperimenti, sui quali ritornerò in seguito quando discuterò la domanda se l'immunità artificiale darà protezione contro l'infezione naturale, devo contestare anche l'affermazione che l'infezione naturale provoca uno stato aculeato del cibo e piccole ferite nel cavo orale.

Mi rivolgo ora alla discussione sull'indebolimento del virus da carbonchio e sull'immunità artificiale da raggiungere di conseguenza.

zögerte er nicht mehr, dem Ergebnis seiner Versuche eine allgemeine Bedeutung beizulegen. Er hielt es für unzweifelhaft, daß nicht nur Schafe, sondern alle für Milzbrand empfänglichen Tierarten gegen diese Krankheit immun zu machen seien, es schien ihm ferner eine ausgemachte Sache zu sein, daß sich alle übrigen Infektionskrankheiten ebenso verhalten müßten wie Milzbrand und daß die ihnen zugehörigen Mikroben abzuschwächen und in schützende Impfstoffe zu verwandeln seien. Mit voller Zuversicht verkündete er den nahen Sieg im Kampfe gegen die Infektionskrankheiten. In diese Zeit fiel die Veröffentlichung der im Laboratorium des Gesundheitsamtes von Loeffler ausgeführten Arbeit über Immunität. Pasteur hatte sein Verfahren zur Abschwächung der Milzbrandbazillen so unvollkommen mitgeteilt, daß es erst umfangreicher eigener Studien bedurfte, um es wiederholen und nachprüfen zu können. Die Arbeit von Loeffler bezog sich deswegen mehr auf die Frage der Immunität im allgemeinen und er kam auf Grund zahlreicher Versuche an Mäusen, Kaninchen, Ratten und Meerschweinchen zu folgendem Resultat: Es gibt in der Tat Bakterienkrankheiten, deren einmaliges Überstehen das befallene Individuum immun macht; dagegen sind aber auch nicht wenige Bakterienkrankheiten bekannt, welche dasselbe Individuum in kurzen Zwischenräumen wiederholt befallen können, also keinen Schutz gegen spätere Infektion verleihen. Über Milzbrand sprach sich Loeffler dahin aus, daß den Tierarten, mit welchen er experimentiert hatte, keine Immunität gegen Milzbrand erteilt werden konnte, daß er noch keinen Versuch an Schafen angestellt habe und erst weitere demnächst auch mit diesen Tieren vorzunehmende Experimente lehren müßten, inwieweit die Hoffnungen, welche durch die Versuche Pasteurs in Pouilly-le-Fort geweckt wurden, in Erfüllung gehen würden oder einzuschränken seien. Diese dem damaligen Stande der Frage durchaus entsprechenden Äußerungen haben sich auch in der Folge als richtig erwiesen und sind durch den weiteren Verlauf der Milzbrandfrage in jeder Beziehung gerechtfertigt, wie sich aus folgender Darlegung ergeben mag.

Zunächst ist das Bestreben Pasteurs, den Verhältnissen, wie sie bei Hühnercholera und Milzbrand bestehen, eine allgemeine Geltung für sämtliche Infektionskrankheiten zu vindizieren, als mit den Erfahrungen der medizinischen Wissenschaft nicht im Einklang stehend zurückzuweisen. Loeffler hatte außer auf seine Versuchsergebnisse mit künstlichen Tierinfektionskrankheiten auch auf die Erfahrungen über Erysipel, Gonorrhoe und Recurrens hingewiesen, welche erwiesenermaßen durch Bakterien bedingte Infektionskrankheiten sind und durch einmaliges Befallen keinen Schutz gegen neue Infektionen erteilen. Zu diesen Infektionskrankheiten, welche den Menschen wiederholt befallen können, tritt in neuester Zeit die Tuberkulose hinzu. Es hat noch kein Arzt die Behauptung aufgestellt, daß ein Mensch, welcher tuberkulös erkrankt war und z. B. an Skrofulose oder an einer fungösen Gelenksaffektion litt und davon geheilt wurde, nunmehr gegen Tuberkulose geschützt sei. Im Gegenteil lehrt die Erfahrung, daß derartigen Individuen vielmehr eine erhöhte Disposition für tuberkulöse Erkrankungen zukommt und daß sie besonders häufig später phthisisch werden. Auch von der Lepra, welche unzweifelhaft als eine Bakterienkrankheit anzusehen ist, hat man noch niemals etwas erfahren, was darauf schließen ließe, daß eine Immunität gegen diese Krankheit zu erwerben sei. Das von Pasteur als allgemein gültig angenommene Gesetz kann also nach den bisherigen Erfahrungen nicht als solches gelten.

Es ist aber ferner auch noch nicht einmal für den Milzbrand das Gesetz der Immunität in dem Umfange aufrecht zu erhalten, wie Pasteur es will. Loeffler hatte schon gefunden, daß Meerschweinchen, Ratten, Kaninchen und Mäuse nicht immun zu machen sind, und diese Tatsache ist bis jetzt von allen Experimentatoren, welche diesem Punkte ihre Aufmerksamkeit zugewendet haben, bestätigt. Gotti in Bologna

Posso presupporre, in quanto noto, che Pasteur abbia condotto innanzitutto esperimenti sull'attenuazione dei microbi del colera dei polli e che in tal modo abbia acquisito la certezza che l'attenuazione sia un effetto dell'ossigeno dell'aria. Egli applicò allora la sua esperienza ai bacilli del carbonchio e riuscì anche ad indebolirne l'effetto tanto che, gli animali così vaccinati, superarono l'infezione e, in seguito a questa vaccinazione anticipata, si mostrarono immuni di fronte alle infezioni col peggiore dei veleni del carbonchio.

Intanto, per immunizzare gli animali contro la vaccinazione con il virus non indebolito, senza incorrere in grosse perdite, fu necessaria, come ritenne Pasteur, una vaccinazione protettiva doppia cioè, per primo un vaccino con una sostanza fortemente indebolita e per secondo un vaccino leggermente indebolito.

Già durante i primi successi con il colera dei polli, Pasteur nutrì le più ampie speranze e, dopo che si arrivò a rendere immuni dal carbonchio una piccola quantità di pecore tramite la vaccinazione preventiva, non esitò più ad attribuire al risultato dei suoi esperimenti un significato generale. Egli ritenne senza dubbio che, non solo le pecore, ma tutti i tipi di animali predisposti al carbonchio siano da immunizzare contro questa malattia, gli parve che fosse un gran cosa che, tutte le malattie infettive rimanenti si dovessero comportare allo stesso modo del carbonchio e che i rispettivi microbi fossero da indebolire e da trasformare in sostanze inoculanti protettive. Pieno di fiducia, rese nota la prossima vittoria nella lotta contro le malattie infettive. In questo periodo ci fu la pubblicazione del lavoro sull'immunità, svolto da Loeffler nel laboratorio di igiene. Pasteur ebbe comunicato il suo metodo sull'indebolimento dei bacilli del carbonchio in maniera talmente incompleta che, ci fu bisogno di approfonditi studi per poterlo ripetere e riesaminarlo. Il lavoro di Loeffler si occupò dunque più della domanda sull'immunità in generale e arrivò, grazie a numerosi esperimenti su topi, conigli, ratti e porcellini d'india, al seguente risultato: di fatto esistono malattie causate da batteri, il cui unico superamento rende immune l'individuo colpito; al contrario, sono anche note non poche malattie causate da batteri che, in brevi lassi di tempo, possono colpire ripetutamente l'individuo, non fornendo nessuna protezione contro infezioni successive. Sul carbonchio Loeffler si espresse in tal senso e cioè, che agli animali coi quali fece gli esperimenti non può essere data nessuna immunità contro il carbonchio; che non aveva ancora effettuato nessun esperimento sulle pecore e che solo ulteriori esperimenti, effettuati in seguito anche con questi animali, dovessero insegnare fino a che punto le speranze, suscitate a Pouilly-le-Fort grazie agli esperimenti di Pasteur, potessero essere realizzate o essere limitate. Queste affermazioni, corrispondenti allo stato della domanda di quel tempo, si sono rivelate giuste nel successivo corso della domanda sul carbonchio, come risulta dalla seguente esposizione.

Innanzitutto, lo sforzo di Pasteur consiste nell'attribuire alla situazione, così come si presenta nel colera dei polli e nel carbonchio, un valore generale per l'insieme delle malattie infettive. Loeffler segnalò, oltre ai suoi risultati degli esperimenti con malattie infettive artificiali degli animali, anche le esperienze sull'erisipela, sulla gonorrea e il recurrens, le quali sono, come dimostrato, delle malattie infettive causate da batteri e che, con un'unica infezione, non procurano nessuna protezione contro nuove infezioni. A queste malattie infettive, che possono ripetutamente colpire l'uomo, si aggiunse da poco la tubercolosi. Nessun medico ha finora avanzato l'affermazione che, un uomo che è stato affetto da tubercolosi, e ad esempio soffrì di scrofola o di un'affezione alle articolazioni e ne guarì, sia d'ora in avanti protetto dalla tubercolosi. Al contrario, l'esperienza insegna che, questi individui hanno una predisposizione maggiore nei confronti di malattie tubercoline e che, in seguito, diventano molto spesso tisiici. Anche della lebbra, che senza dubbio è da classificare come una malattia di origine batterica, non si è mai saputo niente, cosa che fece concludere che ci sia da acquisire un'immunità contro questa malattia. La norma, ritenuta universalmente valida da Pasteur, non può quindi essere ritenuta tale secondo le esperienze precedenti.

Inoltre, la teoria dell'immunità non regge neanche per quanto riguarda il carbonchio, così come invece vorrebbe Pasteur. Loeffler aveva già trovato che, porcellini d'india, ratti, conigli e topi non siano da rendere immuni, e questa realtà è stata confermata finora da tutti i ricercatori che hanno rivolto la loro attenzione a questo argomento.

führte die Schutzimpfung außer an anderen Tieren auch an 6 Kaninchen aus und impfte sie sodann mit Milzbrandblut; sämtliche Kaninchen starben darauf an Milzbrand. Auch die von Guillebeau mit Pasteurschem Impfstoff präventiv geimpften Kaninchen starben nach Impfung mit Milzbrandblut an Milzbrand. In den Versuchen, welche Klein mit aus Paris bezogenem Impfstoffe an Meerschweinchen und Mäusen anstellte, gingen sämtliche Tiere an Milzbrand zugrunde. Im Gesundheitsamte sind sehr zahlreiche Experimente mit Milzbrandvirus, welches in den verschiedensten Graden abgeschwächt war und schließlich auch mit echtem Pasteurschem Impfstoff an Kaninchen, Meerschweinchen und Mäusen angestellt. Aber trotz aller Bemühungen ist es niemals gelungen, eins dieser Tiere gegen die Wirkung des unabgeschwächten Milzbrandgiftes immun zu machen; sie starben ausnahmslos bei den Kontrollimpfungen an echtem Milzbrand. Es kann demnach wohl als ausgemacht gelten, daß nicht alle Tiergattungen sich mit Hilfe des Pasteurschen Verfahrens immun machen lassen. Allem Anschein nach sind auch die Pferde der Schutzimpfung wenig zugänglich; denn in der Sitzung der Société centrale de médecine vétérinaire vom 8. Juni 1882 kamen viele bei der Pferdeimpfung eingetretene Mißerfolge zur Sprache und auch von anderen Seiten ist berichtet, daß Pferde die Präventivimpfungen sehr schlecht ertragen. Daß der Mensch höchstwahrscheinlich keine Immunität gegen den Milzbrand durch das Überstehen dieser Krankheit erlangt, hat schon Loeffler an einer Reihe von Beispielen erörtert. In neuerer Zeit sind noch weitere Belege hierfür durch J. de Jarnowsky geliefert, welcher in seiner eigenen Praxis 50 Milzbrandkranke zu beobachten Gelegenheit hatte und darunter zwei Kranke erwähnt, von denen der eine im Laufe von 2 Jahren zweimal und der andere während eines Zeitraums von 3 Jahren dreimal am Milzbrand erkrankte.

Eine ausgesprochene, durch Präventivimpfung erzielte Immunität ist bislang nur bei Schafen und Rindern gelungen, und es würde vorläufig nur für diese beiden Tiergattungen ein Nutzen aus der Präventivimpfung gezogen werden können. Nach Pasteurs Angaben ist die nach seinem Verfahren ausgeführte Präventivimpfung bei Schafen und Rindern so gefahrlos und gewährt einen so sichern und langdauernden Schutz, daß dieselbe der Landwirtschaft zum größten Segen gereichen müsse. In der Tat hat die praktische Verwertung des Pasteurschen Verfahrens schon in weitem Umfange stattgefunden und es fragt sich nunmehr, ob die von Pasteur gemachten Versprechungen bezüglich der Gefährlosigkeit der Impfung und seine Verheißungen des sicheren Schutzes in Erfüllung gegangen sind. Die Immunitätsfrage gipfelt augenblicklich in diesem Punkte, welcher deswegen eine ausführlichere Besprechung erfordert.

Für die Beurteilung dieser Frage lassen sich zwar schon eine große Anzahl von Experimenten verwerten, welche mit den Pasteurschen Impfstoffen an den verschiedensten Orten und von zuverlässigen Beobachtern angestellt sind, doch sind bei diesen nur praktischen Zwecken gewidmeten Experimenten einige sehr wichtige Verhältnisse mehr oder weniger unberücksichtigt geblieben und ich muß deswegen auf die im Kaiserlichen Gesundheitsamte im Laufe des letzten Jahres angestellten Versuche über Milzbrandimmunität besonderen Wert legen. Dieselben sind von mir in Gemeinschaft mit den Herren Dr. Loeffler und Dr. Gaffky ausgeführt; hier können selbstverständlich nur die Resultate derselben in Kürze angeführt werden, doch ist ihre baldige ausführliche Veröffentlichung beabsichtigt¹⁾. So stattliche Reihen von Versuchstieren wie Pasteur es mit Hilfe der ihm alljährlich zur Verfügung gestellten bedeutenden Geldsummen vermag, können wir allerdings nicht aufweisen, dennoch hoffen wir trotz der verhältnismäßig kleinen Zahl unserer Versuchstiere die Entscheidung einiger wichtigen Fragen der Milzbrandätiologie und der künstlichen Immunität erreicht zu haben.

¹⁾ Diese Werke p. 232 ff. D. Herausgeber.

Gotti, a Bologna, eseguì la vaccinazione preventiva oltre che su altri animali, anche su 6 conigli e li vaccinò con sangue di carbonchio; dopo, tutti i conigli morirono di carbonchio. Anche i conigli vaccinati preventivamente da Guillebeau, con la sostanza inoculante di Pasteur, morirono di carbonchio dopo la vaccinazione con sangue di carbonchio. Negli esperimenti che fece Klein sui porcellini d'india e topi, con sostanze inoculanti portate da Parigi, tutti gli animali morirono. All'ufficio di igiene vengono effettuati numerosi esperimenti su conigli, porcellini d'india e topi col virus di carbonchio, che fu attenuato di diversi gradi, e infine anche con la vera sostanza inoculante di Pasteur. Ma, nonostante tutto l'impegno, non si è mai riusciti a rendere immune uno di questi animali contro l'effetto del veleno di carbonchio non attenuato; morirono tutti, senza eccezione, di vero e proprio carbonchio durante le vaccinazioni di controllo. Per cui, può valere come certo che, non tutte le specie animali si lasciano immunizzare con l'aiuto della tecnica di Pasteur. Apparentemente, anche i cavalli sono poco accessibili alla vaccinazione preventiva; poiché, nella seduta dell'8 giugno 1882 della "Société centrale de médecine vétérinaire" vennero affrontati tutti gli insuccessi presentatisi durante la vaccinazione dei cavalli, ed è documentato anche da altre parti che, i cavalli sopportano mal volentieri la vaccinazione preventiva. Che l'uomo, con tutta probabilità, non acquista nessuna immunità contro il carbonchio tramite il superamento di questa malattia, è stato ampiamente discusso già da Loeffler con una serie di esempi. Di recente, sono stati forniti ulteriori apporti a questo proposito da J. De Jarnowsky, il quale ebbe l'opportunità di osservare nel suo ambulatorio privato 50 malati di carbonchio, tra i quali menziona due malati che si ammalarono, il primo nel giro di 2 anni due volte, l'altro nell'arco di 3 anni tre volte, di carbonchio.

Una immunità tramite la vaccinazione preventiva è stata decisamente raggiunta finora solamente nelle pecore e nei bovini e, provvisoriamente, potrebbe essere tratto vantaggio dalla vaccinazione preventiva solo per queste due specie animali. Secondo le indicazioni di Pasteur, la vaccinazione preventiva effettuata, in base alla sua tecnica, sulle pecore e sui bovini è talmente tanto senza pericolo e garantisce una protezione talmente sicura e duratura che, dovrebbe risultare come la più grossa fortuna dell'agricoltura. In realtà, l'utilizzo pratico della tecnica di Pasteur ha già avuto luogo su vasta scala e ci si chiede ormai se le promesse fatte da Pasteur, riguardo alla mancanza di pericolo della vaccinazione e alla protezione sicura, si siano realizzate. La domanda sull'immunità attualmente culmina su questo punto, il quale, a tal proposito, necessita di una discussione particolareggiata.

Per la valutazione di questa domanda si può già sfruttare un grosso numero di esperimenti, i quali vengono effettuati con le sostanze inoculanti di Pasteur in diversi posti e da osservatori attendibili tuttavia, in questi esperimenti dedicati solo allo scopo pratico, sono rimaste più o meno inosservate alcune importanti condizioni e devo quindi assegnare particolare valore agli esperimenti sull'immunità da carbonchio effettuati nel corso dell'ultimo anno nell'ufficio di igiene imperiale. Gli stessi sono messi in pratica da me in collaborazione con i signori Dott. Loeffler e Dott. Gaffky; in questa sede, ovviamente, i risultati di tali esperimenti possono essere dimostrati solo in breve, tuttavia è prevista dettagliatamente la loro prossima pubblicazione⁴. Queste considerevoli serie di cavie, che Pasteur si è potuto permettere grazie a ingenti somme di denaro messe a disposizione annualmente, noi non siamo tuttavia in grado di presentarle ma speriamo, nonostante il numero relativamente piccolo delle nostre cavie, di aver raggiunto la risoluzione di alcune importanti domande dell'eziologia del carbonchio e dell'immunità artificiale.

⁴ Queste opere, p. 232 e succ. L'editore.

Was zunächst die Bereitung der Impfstoffe betrifft, so sagt Pasteur nur, daß er die Milzbrandbazillen in neutralisierter Fleischbrühe bei einer Temperatur zwischen 42° und 43° kultiviere, wobei sich die Bazillen nach ungefähr 20 Tagen soweit abschwächen, daß sie zur ersten Impfung von Schafen gebraucht werden können. Über den Zeitpunkt, welcher für die Gewinnung des zweiten Vakzins der geeignetste ist, und die Eigenschaften, woran man den Grad der Abschwächung mit genügender Sicherheit erkennt, spricht sich Pasteur nicht mit Bestimmtheit aus, und doch kommt gerade hierauf sehr viel an. Es dürfte gewiß manchem erwünscht sein, etwas Genaueres über die Herstellung des Vakzins zu erfahren und ich werde deswegen unsere darüber gewonnenen Erfahrungen hier mitteilen. Ein sehr wesentliches Erfordernis ist ein Thermostat, welcher wochenlang ohne die geringsten Schwankungen eine gleichmäßige Temperatur beibehält. Als solchen haben wir einen von Wiesnegg in Paris bezogenen Apparat nach d'Arsonval benutzt. In diesem befinden sich bei einer Temperatur von 42,5° C die mit neutralisierter Hühnerbouillon versehenen und mit frischen Milzbrandbazillen unter den gewöhnlichen Kautelen infizierten Kölbchen, welche etwa 20 g Flüssigkeit enthalten. Jeden zweiten Tag wird aus einem Kölbchen eine Impfung an Mäusen, erwachsenen Meerschweinchen und großen starken Kaninchen ausgeführt und zugleich von derselben Flüssigkeit, welche zur Impfung diente, in Nährgelatine eine Reinkultur gemacht. Anfangs werden infolge der Impfung sämtliche Tiere an Milzbrand sterben. Nach mehreren Tagen — die Zahl derselben ist nicht in allen Versuchen gleichmäßig und differiert oft für verschiedene Gläser desselben Versuchs — wirkt die Impfung auf große Kaninchen unsicher, denn es stirbt, wenn mehrere Tiere geimpft werden, nur noch ein Teil derselben, von 3 oder 4 Kaninchen beispielsweise nur 1 oder 2, während Meerschweinchen und Mäuse sämtlich durch die Impfung getötet werden. Noch später überstehen auch die Meerschweinchen die Impfung, während Mäuse noch getötet werden. Schließlich lassen sich noch Reinkulturen von Milzbrandbazillen erzielen, welche selbst auf Mäuse ohne jeden Nachteil verimpft werden können. Morphologisch unterscheiden sich diese Milzbrandbazillen, welche ihre pathogene Eigenschaft vollständig eingebüßt haben, nicht von den virulenten Bazillen. Sie sind vollkommen unbeweglich und bilden in Reinkulturen lange Fäden in gleicher Weise wie jene. Diejenigen Kulturen, welche Mäuse töten, aber für Meerschweinchen unschädlich sind, geben den besten Stoff für die erste Impfung der Schafe ab, und diejenigen, deren Verimpfung Meerschweinchen milzbrandig macht, aber große Kaninchen nicht mehr mit Sicherheit tötet, liefern den Stoff für die zweite Impfung. Sowohl zwischen diesen Stufen als darüber und darunter liegen noch eine Menge verschiedener Abstufungen, welcher unter Umständen ebenfalls als Vakzins verwertet werden können, wenn man sich nicht mit einer zweimaligen Impfung begnügen will. Daß Pasteur die hier angegebenen Kennzeichen für die Stufe der Abschwächung kennt, möchte ich bezweifeln, da sonst nicht so beträchtliche Schwankungen in der Wirkung seiner Vakzins vorkommen dürften, als es der Fall ist. Ich hatte Gelegenheit einen premier vaccin von Pasteur zu prüfen, welcher Mäuse nicht mehr tötete, also zu schwach war, und einen deuxième vaccin, von welchem noch sämtliche damit geimpfte große Kaninchen milzbrandig wurden, welcher sich also zu stark verhielt. Klein impfte mit einem von Bontoux, dem Agenten Pasteurs, bezogenen ersten Impfstoff 4 Meerschweinchen und 6 Mäuse; in den nächsten 48 Stunden starben 3 Meerschweinchen und alle 6 Mäuse, woraus hervorgeht, daß auch dieser Impfstoff als erster Vakzin zu stark war. In Ungarn impfte man nach einem Bericht der Wiener landwirtschaftlichen Zeitung in einem Fall 22 Schafe sofort mit dem deuxième vaccin, ohne vorher den premier vaccin angewandt zu haben; trotzdem blieben die Tiere sämtlich gesund und es ist deswegen zu vermuten, daß dieser Impfstoff als deuxième vaccin zu schwach war.

Per ciò che riguarda la preparazione delle sostanze inoculanti, Pasteur dice solamente che, coltiva i bacilli del carbonchio in un brodo neutralizzato ad una temperatura tra 42° e 43° gradi dove, dopo circa 20 giorni, i bacilli si indeboliscono talmente tanto, da poter essere utilizzati per la prima vaccinazione delle pecore. Sul momento più adatto all'estrazione del secondo vaccino, e sulle caratteristiche dalle quali si riconosce con sufficiente sicurezza il grado dell'indebolimento, Pasteur non si esprime con esattezza, eppure dipende tanto proprio da questo. A qualcuno potrebbe sicuramente fare piacere conoscere qualcosa di più preciso sulla realizzazione del vaccino e, per questo motivo, comunicherò qui le nostre scoperte sull'argomento. Una condizione fondamentale è un termostato che, senza la minima oscillazione, mantiene per settimane una temperatura costante. Noi ne abbiamo utilizzato uno, prodotto a Parigi da Wiesenegg, secondo d'Arsonval. Al suo interno, ad una temperatura di 42,5° C, si trovano delle ampolline contenenti circa 20 g. di liquido, provviste di brodo di pollo neutralizzato e infettate, con le solite cautele, con i bacilli freschi di carbonchio. Ogni due giorni viene praticata da un'ampollina una vaccinazione sui topi, sui porcellini d'india adulti e su conigli grandi e robusti e, contemporaneamente con lo stesso liquido che servì alla vaccinazione, viene fatta una gelatina nutritiva allo stato puro. Inizialmente, in seguito alla vaccinazione, moriranno tutti gli animali di carbonchio. Dopo molti giorni – il numero degli stessi non è uguale in tutti gli esperimenti e ogni giorno cambia spesso il numero dei vari contenitori utilizzati per lo stesso esperimento – la vaccinazione sui conigli grandi ha un effetto insicuro poiché, se vengono vaccinati numerosi animali, ne muore solamente una parte, ad esempio su 3 o 4 conigli solo 1 o 2, mentre i porcellini d'india e i topi vengono uccisi tutti quanti dalla vaccinazione. In seguito, anche i porcellini d'india superano la vaccinazione, mentre i topi vengono ancora uccisi. Infine, si possono ancora raggiungere bacilli di carbonchio allo stato puro, i quali possono essere inoculati sugli stessi topi, senza alcuna conseguenza. Morfologicamente questi bacilli del carbonchio, i quali hanno perso completamente la loro caratteristica patogena, non si differenziano dai bacilli virulenti. Essi sono completamente immobili e formano allo stato puro lunghi fili, in ugual modo come gli altri. Quelle colture, che uccidono i topi ma che sono innocue per i porcellini d'india, rilasciano la migliore sostanza per la prima vaccinazione delle pecore, e quelle, la cui vaccinazione trasmette il carbonchio ai porcellini d'india, ma non uccide più con certezza i conigli grandi, forniscono la sostanza per la seconda vaccinazione. Sia all'interno di questi due stadi, come al di sopra e al di sotto, si trova anche una moltitudine di diverse graduazioni, le quali, forse, possono a loro volta essere utilizzate come vaccino, se non ci si vuole limitare ad una doppia vaccinazione. Voglio mettere in dubbio, che Pasteur conosca le caratteristiche qui elencate per lo stadio dell'indebolimento, poiché altrimenti non si presenterebbero così considerevoli oscillazioni nell'effetto del suo vaccino, come invece è il caso. Ho avuto l'occasione di provare un vaccino primario, che non riusciva più ad uccidere i topi poiché troppo debole, e un secondo vaccino, col quale ancora la totalità dei conigli grandi vaccinati si ammalarono di carbonchio, poiché si mantenne troppo forte. Klein vaccinò 4 porcellini d'india con una sostanza inoculante primaria prodotta da Botroux, l'agente di Pasteur; nelle successive 48 ore morirono 3 porcellini d'india e tutti i 6 topi, da cui si deduce che, anche questa sostanza inoculante fu troppo forte per essere utilizzata come primo vaccino. In Ungheria si vaccinarono, secondo un commento del giornale agricolo viennese, in una volta, 22 pecore immediatamente con il secondo vaccino, senza aver prima applicato il vaccino primario; nonostante ciò, gli animali rimasero tutti sani e si può perciò dedurre che, questa sostanza inoculante fu troppo debole per essere utilizzata come secondo vaccino.

Die Temperatur, welche auf die Kulturen einwirkt, ist von größtem Einfluß auf die Zeitdauer, innerhalb welcher sich die Abschwächung vollzieht. Je näher die Temperatur an 43° kommt, um so schneller tritt die Abschwächung ein und kann schon in 6 Tagen vollendet sein. Bei 42° kann sie eine Dauer bis zu 30 Tagen erfordern. Die Prüfung der Vakzins an Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen ist deswegen unerlässlich. Durch längeres Verweilen der Kulturen in Zimmertemperatur verlieren sie sehr langsam immer mehr an Virulenz. Pasteur hat die nämliche Beobachtung gemacht und wir können sie auf Grund vielfacher Erfahrung bestätigen. Wir haben unsere abgeschwächten Kulturen in Nährgelatine weitergezüchtet, was sich sehr einfach und bequem bewerkstelligen läßt und auch erforderlichenfalls für die Beschaffung beliebig großer Quantitäten wirklich reinkultivierter Impfflüssigkeiten verwertet werden kann. Auf die Reinheit der Kultur müssen wir aus dem Grunde Gewicht legen, weil durch das Eindringen fremder Bakterien, unter denen sich auch pathogene und beispielsweise septisch wirkende befinden können, die Gefahr der Impfung mit solcher Flüssigkeit unnötigerweise erhöht wird. So scheint ein Teil der Mißerfolge, welche die Präventivimpfungen an Pferden hatten, in der Verunreinigung der Impfstoffe mit septisch wirkenden Bakterien ihren Grund gehabt zu haben, was mir um so wahrscheinlicher vorkommt, weil ich mehrere Proben der Pasteurschen Originalvakzins bei der mikroskopischen Untersuchung durch zahlreiche andere Bakterienformen stark verunreinigt fand.

Sowohl mit den Vakzins, welche wir uns in der erwähnten Weise selbst hergestellt hatten, als auch mit solchen, welche aus Paris von dem Agenten Pasteurs bezogen waren, haben wir genau nach der von Pasteur in bezug auf Zeit, Impfstelle, Behandlung der Spritzen usw. angegebenen Vorschrift eine Anzahl von Impfversuchen an Schafen gemacht, welche zu folgendem Ergebnis führten: Schafe ertrugen die Injektion des premier vaccin (welcher keine Meerschweinchen, aber Mäuse tötet) fast ohne Reaktion. Infolge der später vorgenommenen Injektion des deuxième vaccin starb eine Anzahl Tiere an Milzbrand. Die Verluste in Prozentverhältnissen anzugeben würde wegen der kleinen Zahl unserer Versuchstiere keinen Zweck haben. Im allgemeinen stimmten sie mit den Resultaten der Versuche in Kapuvar¹⁾ und Packisch²⁾ überein, welche beiden Versuchsreihen ich vorzugsweise zum Vergleich mit den unsrigen heranziehen will, weil sie in zuverlässiger Weise durch eigens dazu bestellte Kommissionen beobachtet und kontrolliert sind. In Kapuvar starb von 50 Schafen nach der Impfung mit premier vaccin kein Tier, nach Applikation des deuxième vaccin starben 5 Schafe an Milzbrand. Ebenso brachte die Erstimpfung in Packisch keine Verluste, nach der zweiten starben 3 von 25 Schafen an Milzbrand. Ähnliche Zahlen sind von zahlreichen anderen Impfversuchen berichtet, und die Annahme, daß die Erstimpfung keine Verluste, die zweite Impfung 10—15% Verluste ergibt, scheint den tatsächlichen Verhältnissen zu entsprechen. Pasteur hält diese Verlustzahlen für ungewöhnlich hoch und möchte sie auf eine besondere Empfänglichkeit der zum Versuche verwendeten Schafassen beziehen. Doch sind neuerdings auch aus Frankreich Impfresultate berichtet (von Mathieu in der Société centrale de médecine vétérinaire am 13. Juli), welche große Verluste aufweisen. Ein wesentlicher Unterschied zwischen der Widerstandsfähigkeit der französischen und der hiesigen Schafassen scheint demnach nicht zu bestehen. Es sind nun allerdings in Frankreich Präventivimpfungen in vielen Tausenden von Fällen mit sehr geringen Verlusten ausgeführt, doch wurden diese Tiere nicht durch einwurfsfreie Kontrollimpfung auf ihre Immunität geprüft, und es ist anzunehmen, daß dieselben mit einem zu schwachen, weniger wirksamen, dementsprechend aber auch weniger Schutz verleihen-

¹⁾ Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1882, Nr. 2.

²⁾ Archiv für wissenschaftliche und praktische Tierheilkunde VIII, 4 u. 5.

La temperatura, che agisce sulle colture, è quella che influisce maggiormente sulla durata del tempo, entro la quale si compie l'indebolimento. Più la temperatura si avvicina ai 43°C, più velocemente si verifica l'indebolimento, tanto da potersi completare già in 6 giorni. Con 42°C può necessitare di una durata fino a 30 giorni. L'esame dei vaccini sui topi, porcellini d'india e conigli è perciò indispensabile. Con un maggior stazionamento delle colture a temperatura ambiente, perdono molto lentamente sempre di più la virulenza. Pasteur ha effettuato l'osservazione e noi la possiamo confermare grazie ad una molteplice esperienza. Abbiamo proseguito l'allevamento delle colture indebolite nella gelatina nutritiva, cosa che si lascia realizzare in maniera molto semplice e comoda e può anche essere riutilizzato, in caso di necessità, per procurare qualunque quantità di veri liquidi inoculanti allo stato puro. Dobbiamo perciò dare importanza alla purezza della coltura poiché, con l'introdursi di batteri estranei, tra i quali se ne possono trovare anche patogeni e ad effetto setticemico, il pericolo di vaccinazioni con tale liquido viene innalzato inutilmente. Così, una parte degli insuccessi che le vaccinazioni preventive hanno avuto sui cavalli, pare fossero motivate dalla contaminazione delle sostanze inoculanti con batteri ad effetto setticemico, che mi pare ancora più probabile dato che, durante l'indagine microscopica, trovai numerose prove del vaccino originale di Pasteur fortemente contaminate da molteplici altre forme batteriche.

Sia con i vaccini che abbiamo prodotto noi stessi nel modo descritto, che con quelli prodotti a Parigi e acquistati dall'agente di Pasteur, abbiamo eseguito una serie di prove di vaccinazione sulle pecore, seguendo le indicazioni date da Pasteur riguardo al tempo, al punto di vaccinazione, al trattamento delle punture, ecc..., che portarono al seguente risultato: le pecore sopportarono l'iniezione del primo vaccino (che non uccise i porcellini d'india, bensì i topi) quasi senza reazione. In seguito, dopo aver effettuato l'iniezione del secondo vaccino, morì una quantità di animali di carbonchio. Indicare le perdite in un rapporto di percentuale non avrebbe nessun senso, dato il numero esiguo delle nostre cavie. In generale, combaciavano con i risultati degli esperimenti a Kapuvar⁵ e Packisch⁶, da cui prenderò le due fila di esperimenti come paragone principale per i nostri, poiché sono osservate e controllate in maniera attendibile da commissioni chiamate appositamente per tale scopo. A Kapuvar, dopo l'inoculazione col primo vaccino, su 50 pecore non morì nessun animale; dopo l'applicazione del secondo vaccino morirono di carbonchio 5 pecore. Allo stesso modo, la prima vaccinazione a Pakisch non comportò nessuna perdita; dopo la seconda, morirono di carbonchio 3 pecore su 25. Cifre simili sono documentate da tanti altri esperimenti di vaccinazione e, l'ipotesi che la prima vaccinazione non comporti nessuna perdita e la seconda una perdita del 10-15%, pare corrisponda alle condizioni reali. Pasteur sostiene che, queste cifre di perdita siano insolitamente alte e le vuole rapportare ad una particolare predisposizione delle razze di pecore utilizzate per l'esperimento. Tuttavia, ultimamente sono documentati dei risultati di vaccinazioni anche dalla Francia (da Mathieu nella Società Centrale di medicina veterinaria del 13 luglio), che presentano grandi perdite. Per cui, pare non ci sia una reale differenza tra la resistenza della razza di pecore francese e quella locale. Tuttavia, in Francia sono praticate vaccinazioni preventive su tanti migliaia di casi con perdite molto lievi, eppure questi animali non vennero esaminati in base alla loro immunità attraverso una vaccinazione di controllo inosservata, ed è da supporre che siano vaccinati con una sostanza molto debole, con minor efficacia e di conseguenza anche meno protettiva.

⁵ Settimanale tedesco di medicina, 1882, Nr. 2.

⁶ Archivio di medicina veterinaria scientifica e pratica, VIII, 4. e 5.

den Stoffe geimpft sind. Für den zweiten Versuch in Packisch, bei welchem 251 Schafe geimpft wurden, lieferte Pasteur, wie ausdrücklich gesagt ist, einen weniger wirksamen Impfstoff und es fiel infolgedessen nur ein Schaf an Milzbrand.

Selbstverständlich führten wir nach geschehener Präventivimpfung, und zwar in einem Falle, welchen ich hier besonders im Auge habe, drei Wochen nach der letzten Impfung eine Kontrollimpfung mit unabgeschwächtem Milzbrandgift aus. Von 6 Schafen, welche mit Pasteur'schem Vakzin vorschriftsmäßig präventiv geimpft waren, starb eins an Milzbrand. Zwei mit einem anderen Vakzin präventiv geimpfte Schafe blieben nach derselben Infektion am Leben. Auch diese Zahlen sind viel zu gering, um von bestimmten Verlustverhältnissen reden zu können. Aber es ist gleichwohl auffallend, daß bei der Kontrollimpfung in Packisch von 22 Schafen keins und in Kapuvar von 44 Schafen nur ein Tier milzbrandig wurde, während wir schon von 6 Tieren eins verloren. Die Erklärung hierfür scheint mir darin zu liegen, daß die Kontrollimpfungen in Packisch und Kapuvar mit einem von Pasteur eigens zu diesem Zweck von Paris geschickten virulenten Milzbrandstoff bewirkt sind, in unserem Versuche aber zur Kontrollimpfung ein aus hiesiger Gegend stammendes Milzbrandgift benutzt wurde, welches, wie ich annehmen muß, eine größere Virulenz besitzt als das von Pasteur zu den Kontrollimpfungen abgegebene.

Auf diese Vermutung haben mich außer den in unsern eigenen Versuchen gewonnenen Erfahrungen noch folgende Tatsachen geführt.

Nach einem Berichte¹⁾ des Kreistierarztes Saake in Wolfenbüttel, welcher auf der Domäne Salzdahlum 82 Schafe mit Pasteur'schem premier und deuxième vaccin impfte, erlagen der zweiten Impfung 3 Schafe, was auf eine hinreichende Stärke des Impfstoffes schließen läßt. Als dann nach 8 Wochen später 10 von diesen präventiv geimpften Schafen einer Kontrollimpfung unterzogen wurden, starben 2 an echtem Milzbrand. Auch in diesem Versuch war mit Milzbrandblut, welches einem zufällig spontan an Milzbrand gefallenen Schafe entnommen war, die Kontrollimpfung gemacht.

Ganz unzweifelhaft trat aber der Unterschied in der Wirkung des von Pasteur zur Kontrolle gelieferten sogenannten unabgeschwächten Milzbrandgiftes und dem von spontan an Milzbrand gestorbenen Tieren entnommenen in den Versuchen von Bassi in Turin hervor. 6 Stück präventiv geimpfte Schafe wurden mit dem Pasteur'schen virulenten Stoffe geimpft und blieben gesund, 6 andere ebenfalls präventiv geimpfte Schafe wurden gleichzeitig mit dem Blut eines 2½ Stunden vorher an Milzbrand gefallenen Rindes geimpft und es starben danach 2 Tiere an Milzbrand.

Die Erklärung für diese auffallende Erscheinung möchte ich darin suchen, daß der von Pasteur als unabgeschwächtes Virus bezeichnete Stoff im Laufe der Zeit ebenso wie seine Vakzins, sich allmählich immer mehr abgeschwächt hat und nicht mehr seine ursprüngliche Kraft besitzt.

Immerhin zeigen sowohl die Versuche in Salzdahlum und Turin, als auch der unsrige, daß eine verhältnismäßig nicht geringe Zahl von Schafen, welche die Impfung mit einem kräftigen deuxième vaccin überstanden haben, der Impfung mit einheimischem Milzbrandgift erliegt und also nicht vollständig immun geworden ist. Um so mehr läßt sich auch erwarten, daß die Verimpfung eines schwächeren deuxième vaccin, welcher Schafe in noch geringerer Zahl tötet, auch einen entsprechend geringeren Schutz verleiht, und in der Tat stellt sich immer mehr heraus, daß diese Vermutung begründet ist. In Frankreich belief sich zu Anfang September nach den Angaben Pasteur's die Zahl der geimpften Schafe auf 400 000 und die der geimpften Rinder auf 40 000. Die Verluste schätzte

¹⁾ Einer brieflichen Mitteilung entnommen.

Per il secondo esperimento a Pakisch, durante il quale vennero vaccinate 251 pecore, Pasteur fornì, come espressamente detto, una sostanza inoculante meno efficace e, successivamente, morì solamente una pecora di carbonchio.

Naturalmente, dopo aver effettuato la vaccinazione preventiva, dopo tre settimane dall'ultima vaccinazione, eseguiamo in un caso, che guardo in maniera particolare, una vaccinazione di controllo con veleno di carbonchio non indebolito. Su 6 pecore, preventivamente vaccinate in modo regolamentare col vaccino di Pasteur, ne morì una di carbonchio. Due pecore, preventivamente vaccinate con un altro vaccino, rimasero in vita dopo aver contratto la stessa infezione. Anche queste cifre sono estremamente basse per poter parlare di condizioni di insuccesso certe. Ma è, ciononostante, impressionante che, durante la vaccinazione di controllo a Pakisch su 22 pecore nessuna si ammalò di carbonchio e a Kapuvar, su 44 pecore, se ne ammalò solo una, mentre noi su 6 animali ne abbiamo già perso uno. La spiegazione a tutto ciò mi pare stia nel fatto che, le vaccinazioni di controllo a Pakisch e Kapuvar siano ottenute con una sostanza di carbonchio virulenta, spedita dallo stesso Pasteur a questo scopo da Parigi, mentre nel nostro esperimento per la vaccinazione di controllo fu utilizzato un veleno di carbonchio originario della zona locale, il quale possiede, come devo supporre, una virulenza maggiore rispetto a quello consegnato da Pasteur per le vaccinazioni di controllo.

A questa supposizione mi hanno condotto, oltre le esperienze ricavate dai nostri propri esperimenti, anche i seguenti fatti.

Secondo un commento⁷ del veterinario del circondario di Wolfenbüttel Saake, il quale vaccinò sul demanio di Salzdahlum 82 pecore con il vaccino primario e secondario di Pasteur, morirono dopo la seconda vaccinazione 3 pecore, da cui si può dedurre una forza sufficiente della sostanza inoculante. Quando poi, 8 settimane più tardi 10 di queste pecore preventivamente vaccinate furono sottoposte ad una vaccinazione di controllo, 2 morirono di vero e proprio carbonchio. Anche in questo esperimento, fu fatta una vaccinazione di controllo con sangue di carbonchio, il quale fu prelevato da una pecora morta casualmente e spontaneamente di carbonchio.

Del tutto priva di dubbi, apparve la differenza dell'effetto tra il cosiddetto veleno di carbonchio non indebolito sottoposto al controllo da Pasteur e quello rilevato durante gli esperimenti di Bassi a Torino dagli animali morti spontaneamente di carbonchio. 6 capi di pecore, preventivamente vaccinate, furono vaccinate con la sostanza virulenta di Pasteur e rimasero sane; altre 6 pecore, anch'esse vaccinate preventivamente, furono contemporaneamente vaccinate con il sangue di un vitello, morto di carbonchio 2 ore ½ prima, e in seguito morirono di carbonchio 2 animali.

La spiegazione a questo avvenimento notevole voglio cercarla nel fatto che, col tempo, quella sostanza definita da Pasteur come virus indebolito, si sia gradualmente indebolita sempre di più, allo stesso modo dei suoi vaccini, e abbia perso la sua forza originaria.

Comunque, sia gli esperimenti di Salzdahlum e Torino, sia il nostro mostrano che, un numero di pecore relativamente alto, sopravvissuto al secondo vaccino effettuato con una vaccinazione potente, soccombe alla vaccinazione con veleno di carbonchio locale e non si immunizza totalmente. Per di più, ci si può aspettare che, l'inoculazione di un secondo vaccino più debole, il quale uccide le pecore in numero ancora limitato, fornisca anche una relativa protezione più bassa e, in realtà questa supposizione risulta sempre maggiormente fondata. Secondo le indicazioni di Pasteur, agli inizi di settembre, in Francia il numero delle pecore vaccinate ammontò a 400.000 e quello dei vitelli vaccinati a 40.000.

⁷ Tratto da una comunicazione epistolare.

Pasteur auf 3 pro mille für Schafe und 0,5 pro mille für Rinder. Die Richtigkeit dieser Zahlen werde ich selbstverständlich nicht in Zweifel ziehen, aber es ist notwendig, sie mit einem Kommentar zu versehen. Man erfährt nämlich aus diesen Zahlen absolut nichts weiter, als daß eine verhältnismäßig große Zahl von Tieren die Impfung ohne Schaden überstanden hat. Das, worauf es uns aber ankommt, ob nämlich der Zweck der Impfung erreicht und ob diese Tiere wirklich immun geworden sind, darüber sagt Pasteur nichts. Der eigentliche Wert der Präventivimpfung würde sich aber doch nur aus Zahlenangaben über die wirklich immunisierten Tiere ergeben. Was würde man wohl von Jenner gesagt haben, wenn er weiter keine Vorteile von der Vakzine-Impfung zu rühmen gewußt hätte, als daß Tausende von Kindern geimpft und infolge der Impfung nur so und soviel Prozent gestorben seien? Gewiß würde nichts der Milzbrandimpfung schneller die volle Anerkennung verschaffen, als wenn man die Tausende von Tieren aufzählen könnte, welche man notorisch gegen Milzbrand geschützt hat. Das hat Pasteur allerdings bislang nicht vermocht. Im Gegenteil häufen sich in der letzten Zeit die Klagen über die Mißerfolge der Impfung, und die Schwächen derselben stellen sich immer mehr heraus.

Schon in einer am 8. Juni abgehaltenen Sitzung der Société centrale de médecine vétérinaire kam eine Anzahl solcher Mißerfolge zur Sprache und Pasteur wurde darüber interpelliert. Er erklärte, daß ihm nicht alle diese, sondern noch viele andere bekannt geworden seien. Dieselben hätten darin ihren Grund, daß der ursprünglich kultivierte Impfstoff allmählich an Virulenz verloren habe und daß die im Laufe des Winters bis Ende März dieses Jahres von ihm gelieferten Vakzins zu schwach gewesen seien. Wir erfahren hier also, daß während eines langen Zeitraums mit zu schwachem Impfstoff geimpft ist, und können uns deswegen auch nicht mehr wundern, wenn unter den Hunderttausenden von Schafen, welche im Laufe des Winters in Frankreich geimpft sind, so geringfügige Impfverluste vorkamen. Dagegen ist es befremdend, daß Pasteur, welcher auch die mit zu schwachem Impfstoffe geimpften Tiere sorgfältig zusammenrechnet, um mit möglichst hohen Zahlen und geringen Verlusten glänzen zu können, über die vielen ihm bekannt gewordenen Mißerfolge stillschweigend hinweggeht. Die Erklärung, welche Pasteur bei dieser Gelegenheit jenen Mißerfolgen zuteil werden ließ, hat sich außerdem auch schon als ein Irrtum herausgestellt. Die Impfungen hätten, wenn Pasteur recht gehabt hätte, vom Anfang April dieses Jahres ab einen gleichmäßigeren Effekt haben und bei einer nicht zu hohen Sterblichkeit einen möglichst kräftigen Schutz verleihen müssen. Dies ist aber nicht eingetreten, wie sich aus folgenden Notizen über einige nach dem ersten April ausgeführte Impfungen ergibt.

Bassi in Turin impfte am 20. April d. J. zum ersten- und am 5. Mai zum zweitenmal. Bei der Kontrollimpfung mit unabgeschwächtem Milzbrand starben von 6 Schafen 2 Tiere.

Die schon erwähnte Impfung in Salzdahlum mit 2 Todesfällen auf 10 Kontrollimpfungen und einem Verlust von 4% bei der zweiten Impfung fiel in die Zeit vom 25. Mai bis 9. August d. J.

Die ebenfalls schon früher erwähnte Impfung in Ungarn, bei welcher 22 Schafe nur mit dem offenbar zu schwachen deuxième vaccin ohne jeden Nachteil geimpft wurden, fällt in den Monat Juni d. J.

Im Recueil de méd. vét. Nr. 15 d. J. ist berichtet, daß in Beauchery vom 25. April bis 8. Mai d. J. 296 Lämmer geimpft wurden, von denen nur 1 Tier zehn Tage nach der zweiten Impfung an Milzbrand starb. Offenbar war der Impfstoff zu schwach. Es starben denn auch vom 22.—24. Juni 4 von diesen Tieren an spontanem Milzbrand. Es ist dies

Pasteur valutò le perdite del 3 per mille per le pecore e dello 0,5 per mille per i vitelli. Non metterò sicuramente in dubbio la veridicità di queste cifre, ma è necessario accompagnarle con un commento. Infatti, non si apprende nulla in più del fatto che un numero relativamente alto di animali ha superato la vaccinazione senza danni. Su quello che però preme a noi sapere, e cioè se lo scopo della vaccinazione è stato raggiunto e se questi animali sono diventati immuni, Pasteur non dice nulla. Il vero merito della vaccinazione preventiva risulterebbe tuttavia solo da indicazioni numeriche relative agli animali realmente immunizzati. Cosa si sarebbe potuto dire di Jenner se non avesse potuto esaltare diversamente i vantaggi della vaccinazione se non, che in seguito alla vaccinazione di migliaia di bambini, ne siano morti in una determinata percentuale? Sicuramente, niente procurerebbe alla vaccinazione contro il carbonchio il pieno riconoscimento in maniera più veloce, se non contando le migliaia di animali, che sono stati notoriamente protetti dal carbonchio. Tuttavia, Pasteur questo finora non l'ha fatto. Al contrario, nell'ultimo periodo sono aumentate le lamentele sugli insuccessi della vaccinazione e le sue debolezze risaltano sempre di più.

Già in una seduta della società centrale di medicina veterinaria, tenutasi l'8 giugno, venne affrontato l'argomento sulla quantità di questi insuccessi, interpellando a tal proposito Pasteur. Egli spiegò che fu a conoscenza non solo di questi insuccessi, ma di tanti altri ancora. Questi sarebbero motivati dal fatto che, la sostanza inoculante originariamente coltivata avrebbe gradualmente perso la sua virulenza e che, i vaccini da lui prodotti durante l'inverno fino alla fine di marzo di quest'anno sarebbero stati troppo deboli. Apprendiamo quindi che, durante un lungo arco di tempo si effettuano vaccinazioni con una sostanza inoculante troppo debole, e perciò non ci possiamo nemmeno meravigliare se, tra le centinaia di migliaia di pecore che vengono vaccinate nel corso dell'inverno in Francia, comparvero così irrilevanti perdite di vaccinazione. Al contrario è sconcertante che Pasteur, il quale include minuziosamente anche gli animali vaccinati con sostanza inoculante indebolita, per poter fare bella figura con cifre possibilmente elevate e poche perdite, passi tacitamente sopra ai numerosi insuccessi divenutigli noti. La spiegazione, che Pasteur attribuì in questa occasione agli insuccessi, si è inoltre rivelata anch'essa come un errore. Se Pasteur avesse avuto ragione, le vaccinazioni avrebbero dovuto avere un effetto più regolare, a partire dall'inizio di aprile di quest'anno, e avrebbero dovuto apportare una protezione possibilmente forte, in caso di una mortalità non troppo elevata. Questo però non è accaduto, come risulta dalle seguenti notizie su alcune vaccinazioni effettuate dopo il primo di aprile.

A Torino, Bassi effettuò le vaccinazioni per la prima volta il 20 aprile c. a., il 5 maggio per la seconda volta. Durante la vaccinazione di controllo con carbonchio indebolito, morirono 2 pecore su 6.

La vaccinazione a Salzdahlum, già accennata in precedenza, dove ci furono 2 casi di morte su 10 vaccinazioni di controllo e una perdita del 4%, avvenne nell'arco di tempo tra il 25 maggio e il 9 agosto c. a..

Anche la vaccinazione già accennata in Ungheria, durante la quale furono vaccinate, senza alcuna conseguenza, 22 pecore con il secondo vaccino evidentemente troppo debole, avvenne nel mese di giugno c. a..

Nella raccolta di medicina veterinaria n°15 c.a. viene commentato che, a Beauchery vennero vaccinati 296 agnelli dal 25 aprile all'8 maggio c. a., dei quali morì solamente 1 animale di carbonchio, dopo 10 giorni dalla seconda vaccinazione. Evidentemente la sostanza inoculante fu troppo debole. Poiché, anche dal 22 al 24 giugno, morirono 4 di questi animali di carbonchio spontaneo.

um so auffallender, als 80 nicht geimpfte, als Kontrolltiere dienende Hammel in dieser Zeit keine Verluste an Milzbrand hatten.

In Montpothier nahm die Impfung folgenden wunderbaren Verlauf: Am 18. April d. J. wurden 220 Hammel mit premier vaccin geimpft, danach starben 9 Tiere. Die Überlebenden erhielten am 29. April nochmals premier vaccin; es starben wieder 7 Hammel, Dann folgte am 17. Mai die Impfung mit deuxième vaccin; es starb danach 1 Hammel. Nun hätte man meinen sollen, daß nach dieser dreifachen, mit so bedeutenden Verlusten abgelaufenen Impfung die Herde gegen Milzbrand geschützt gewesen wäre. Keineswegs. Es starben vom 11. bis 13. Juni 6 Hammel an spontanem Milzbrand. Man entschloß sich deswegen, die zweite Impfung noch einmal zu wiederholen. Es geschah am 17. Juni und starben infolgedessen wiederum 5 Hammel an Milzbrand. Hier darf man wohl fragen: gibt es überhaupt eine künstliche Immunität oder taugte der Impfstoff nicht?

Auch die Impfungen in Packisch gehören in diese Periode. Der Impfstoff der ersten Versuchsreihe war entschieden zu stark, denn er bewirkte 12% Verlust. Derjenige der zweiten Versuchsreihe, welchen Pasteur als einen schwächeren bezeichnete, war, wie sich später herausgestellt hat, zu schwach, denn er schützte nicht gegen die natürliche Infektion.

Diese Beispiele dürften genügen, um zu zeigen, daß der von Pasteur nach dem 1. April d. J. gelieferte Impfstoff bald zu schwach und bald zu stark, also noch unzuverlässiger war als der im letzten Winter abgegebene Stoff.

Pasteur fühlte offenbar schon in der Sitzung der Société centrale de méd. vét. vom 8. Juni das Mißliche seiner Lage. Lieferte er einen kräftigen Impfstoff, der einen sicheren Schutz gegen Impfmilzbrand (wenigstens gegen die Impfung mit Pasteurs sog. virulentem Stoff) verleiht, dann erlagen zu viele Tiere der Impfung mit dem deuxième vaccin. Gab er aber einen zu schwachen Impfstoff, wie es im Laufe des letzten Winters der Fall war, dann wurde offenbar kein genügender Schutz erzielt. Um sich aus dieser Verlegenheit zu befreien, stellte Pasteur die merkwürdige Behauptung auf, daß es nicht nötig sei, die Schafe mit einem so kräftigen und große Verluste bedingenden Impfstoff zu behandeln, denn der Impfmilzbrand, also die künstliche Infektion, sei viel gefährlicher für die Tiere als die natürliche Infektion, um gegen letztere zu schützen, genüge ein schwächerer Vakzin. Irgendwelche Gründe, welche ihm zu dieser offenbar ganz willkürlichen und nur im Interesse der gefährdeten Schutzimpfung aufgestellten Behauptung berechtigten, vermochte Pasteur nicht beizubringen. Eigentlich hätte die Frage, ob die Tiere durch die Präventivimpfung auch gegen die natürliche Infektion geschützt werden, noch ehe die Schutzimpfung in die Praxis eingeführt wurde, erledigt werden müssen und nicht, nachdem schon Hunderttausende von Tieren mit bedeutenden Opfern geimpft sind. Denn wenn es sich nun umgekehrt verhalten sollte, als Pasteur annimmt, und die geimpften Tiere sich wohl gegen die künstliche, aber gegen die natürliche Infektion gar nicht oder doch wenigstens in ungenügender Weide geschützt erweisen sollten, was würde dann überhaupt die ganze Impfung noch für einen Nutzen haben? Da diese Frage unbedingt die wichtigste für die Entscheidung über den Wert der künstlichen Milzbrandimmunität ist, so hatten wir dieselbe bei unseren Experimenten im Kaiserlichen Gesundheitsamte von Anfang an in den Vordergrund gestellt. Es lag uns weniger daran, eine größere Zahl von Schafen gegen Impfmilzbrand immun zu machen, denn die Tatsache der künstlichen Immunität konnte, nachdem sowohl von Toussaint als von Pasteur viele Tiere wirklich immun gemacht waren, nicht mehr bezweifelt werden. Dagegen suchten wir uns vor allen Dingen über die Art und Weise Gewißheit zu verschaffen, wie die natürliche Infektion des Milzbrandes zustande kommt.

Questo è tanto più evidente, dato che 80 montoni non vaccinati e utilizzati come animali di controllo, in questo lasso di tempo, non ebbero nessuna perdita a causa del carbonchio.

A Montpothier la vaccinazione prese il seguente percorso meraviglioso: il 18 aprile c.a. furono vaccinati 220 montoni con il primo vaccino, in seguito al quale morirono 9 animali. I sopravvissuti ottennero il 29 aprile nuovamente un primo vaccino; morirono di nuovo 7 montoni. Poi, il 17 maggio, seguì la vaccinazione con il secondo vaccino; successivamente morì un montone. Ora si sarebbe dovuto pensare che, in seguito a questa triplice vaccinazione, svoltasi con delle perdite così notevoli, il gregge fosse protetto contro il carbonchio. Assolutamente. Dall'11 fino al 13 giugno morirono 6 montoni di carbonchio spontaneo. Si decise perciò, di ripetere nuovamente la seconda vaccinazione. Questa avvenne il 17 giugno e, in seguito, morirono nuovamente 5 montoni di carbonchio. Qui ci si può chiedere: esiste realmente un'immunità artificiale o la sostanza inoculante non fu adatta?

Anche le vaccinazioni di Pakisch appartengono a questo periodo. La sostanza inoculante della prima serie di vaccinazioni fu decisamente troppo forte, poiché procurò il 12% delle perdite. Quella della seconda serie di esperimenti, che Pasteur definì come più debole, fu, come risultò in seguito, troppo debole, poiché non proteggeva contro l'infezione naturale.

Questi esempi dovrebbero essere sufficienti per mostrare, che la sostanza inoculante prodotta da Pasteur dopo il 1. di aprile, a momenti troppo debole, a momenti troppo forte, fu ancora meno attendibile della sostanza realizzata l'inverno scorso.

Pasteur percepì in maniera molto evidente, già durante le sedute della società generale di medicina veterinaria dell'8 giugno, la spiacevolezza della sua condizione. Producendo una sostanza inoculante forte, che assicura una protezione sicura contro il carbonchio (perlomeno contro la vaccinazione con la sostanza definita da Pasteur come virulenta), troppi animali morirono dalla vaccinazione con il secondo vaccino. Se invece diede una sostanza inoculante troppo debole, come nel caso dello scorso inverno, allora non fu evidentemente raggiunta nessuna protezione sufficiente. Per potersi liberare da questo imbarazzo, avanzò la strana tesi che non sia necessario trattare le pecore con una sostanza inoculante così forte e determinante grosse perdite, poiché il carbonchio da vaccinazione, cioè l'infezione artificiale, sarebbe molto più pericolosa per gli animali che non l'infezione naturale; per proteggere da quest'ultima basterebbe un vaccino più debole. Qualunque fosse il motivo che lo autorizzò a questa supposizione del tutto casuale, Pasteur non lo presentò. In realtà il quesito, se tramite la vaccinazione preventiva gli animali vengano protetti anche dall'infezione naturale, sarebbe dovuto essere risolto ancora prima che la vaccinazione protettiva fosse messa in pratica, e non dopo che centinaia di migliaia di animali sono stati vaccinati con significativi sacrifici. Poiché, se le cose stessero al contrario, così come afferma Pasteur, e gli animali vaccinati si mostrassero protetti contro l'infezione artificiale, mentre contro quella naturale in nessun modo o solo insufficientemente, che tipo di utilità avrebbe allora l'intera vaccinazione? Dato che questa domanda è la più importante per la decisione sul valore dell'immunità artificiale dal carbonchio, l'abbiamo messa, sin dall'inizio, in primo piano durante i nostri esperimenti nell'ufficio di igiene imperiale. Non ci interessò tanto rendere immune un numero maggiore di pecore contro il carbonchio, poiché la realtà dell'immunità artificiale non poteva più essere messa in dubbio, dopo che molti animali furono resi veramente immuni sia da Toussaint che da Pasteur. Per contro, cercammo di accertarci soprattutto sulla tipologia e la modalità con le quali ha luogo l'infezione naturale da carbonchio.

Pasteur nimmt, wie früher schon erwähnt wurde, an, daß die Infektion durch rauhes, stachliges Futter, welches den Tieren kleine Verletzungen im Maule beibringt, vermittelt wird. Es würde dies schließlich nur eine besondere Art von Impfmilzbrand sein. Gegen diese Auffassung sprechen verschiedene Gründe, welche ich bei einer früheren Gelegenheit ausführlich dargelegt habe. Einer Wiederholung derselben bedarf es hier indessen nicht, da ich jetzt einige Versuche zu schildern habe, welche Pasteur's Theorie direkt widerlegen.

Mehreren Schafen wurden mit dem Futter Milzbrandsubstanzen beigebracht, welche nur Bazillen und keine Sporen enthielten. Einige andere Schafe erhielten dagegen sporenhaltige Milzbrandmassen. Die Fütterung der Tiere geschah in der Weise, daß ein Stück von einer Kartoffel ausgehöhlt, mit dem Infektionsstoff gefüllt und dem Tiere so vorsichtig in das Maul gesteckt wurde, daß eine Verletzung der Maulschleimhaut nicht dabei vorkommen konnte. Auch das Kartoffelstück kann nicht als stachliges Futter gelten, außerdem erhielten die Schafe nur weiches Heu, so daß die von Pasteur vorausgesetzten Infektionsbedingungen vollständig ausgeschlossen waren. Als sporenfreie Substanz diente die frische Milz von einem an Milzbrand gestorbenen Meerschweinchen, als sporenhaltige Substanz eine auf Kartoffeln gezüchtete und in Sporenbildung begriffene Kultur von Milzbrandbazillen. Das Resultat des Versuches war folgendes: Die mit der sporenfreien Milz vom Meerschweinchen gefütterten Schafe blieben, obwohl die Fütterung noch mit anderem sporenfreiem Material wiederholt wurde, gesund. Die mit der sporenhaltigen Bazillenkultur gefütterten Schafe waren dagegen nach wenigen Tagen sämtlich an Milzbrand gefallen. Die Sektion derselben ergab einen Befund, welcher keinen Zweifel darüber ließ, daß die Infektion vom Darm aus stattgefunden hatte. In der Maulhöhle, im Schlund und in der Speiseröhre wurden überdies bei diesen Tieren nicht die geringsten Verletzungen oder Veränderungen gefunden, welche auf eine Infektion an diesen Stellen hingedeutet hätten. Die Milzbrandbazillen gehen also höchstwahrscheinlich im Magen, dessen Inhalt eine saure Beschaffenheit hat, zugrunde, während die Sporen ihn unbeschädigt passieren, im alkalischen Darminhalte auswachsen und dann in die Schleimhaut des Darmkanals eindringen. Die mikroskopische Untersuchung macht es wahrscheinlich, daß die Lymphfollikel und die Peyer'schen Drüsen die Stelle der Invasion bilden.

Die eben erwähnten Schafe waren mit Milzbrandkulturen gefüttert, welche frische Sporen in reichlicher Menge enthielten. In der Folge haben wir aber auch sporenhaltige Massen verfüttert, welche länger als ein Jahr in getrocknetem Zustande aufbewahrt waren. Dieselben töteten Schafe mit derselben Sicherheit durch Milzbrand wie frische Sporen oder wie eine Impfung mit frischem Milzbrandblut. Wir hatten bei diesen Versuchen, um überhaupt erst einmal die Möglichkeit einer Infektion vom Darm aus festzustellen, nicht zu geringe Mengen von Sporenmateriale verfüttert. Es mußte indessen berücksichtigt werden, daß, wenn die natürliche Infektion vom Darm aus stattfindet, dieselbe gewöhnlich durch die Aufnahme einer sehr geringen Zahl von Sporen zustande kommen wird, welche sich in Form von Staub oder auf sumpfigen und überschwemmten Weiden mit dem Schlamm und dgl. dem Futter beigegeben haben. Aus diesem Grunde stellten wir noch folgenden Versuch an. Zehn Schafe erhielten täglich ein Kartoffelstück, in welches ein Fädchen mit Milzbrandsporen eingeklemmt war. Die aus Seide bestehenden Fäden hatten eine Länge von kaum einem Zentimeter, waren ein Jahr zuvor mit nur sehr geringer Menge Milzbrandsporen imprägniert und in trockenem Zustande aufbewahrt. Zwei Schafe, welche als Kontrolltiere dienten, befanden sich mit jenen Tieren zusammen in demselben Stalle, wurden in derselben Weise gepflegt, erhielten aber keine sporenhaltigen Fädchen. Von den zehn gefütterten Schafen

Pasteur sostiene, come si è già accennato in precedenza, che l'infezione viene procurata dal cibo ruvido e aculeato, che causa agli animali delle piccole ferite nel muso. Si tratterebbe però di una forma particolare di carbonchio inoculante. Contro questa concezione parlano diversi motivi, che ho presentato in una circostanza passata. Non è questa la sede per una loro ripetizione, poiché devo descrivere alcuni esperimenti che confutano direttamente la teoria di Pasteur.

Al cibo di molte pecore furono aggiunte delle sostanze di carbonchio, che contenevano solo bacilli, ma nessuna spora. Alcune altre pecore ricevettero invece quantità di carbonchio contenenti spore. La nutrizione degli animali avvenne nel seguente modo, secondo il quale il pezzo di una patata viene svuotato, riempito con la sostanza infettiva e introdotto talmente delicatamente nel muso dell'animale in modo che non si possa presentare alcuna ferita della mucosa orale. Nemmeno il pezzo di patata può valere come cibo aculeato, inoltre le pecore ottennero solo fieno morbido, in modo che tutte le condizioni infettive proposte da Pasteur fossero completamente escluse. Come sostanza priva di spore servì la milza fresca di un porcellino d'india morto di carbonchio, come sostanza contenente spore una coltura di bacilli di carbonchio, allevata con patate e compresa nella formazione delle spore. Il risultato dell'esperimento fu il seguente: le pecore nutrite con la milza priva di spore del porcellino d'india rimasero sane, nonostante la nutrizione fosse ripetuta con altro materiale privo di spore. Le pecore nutrite con la coltura di bacilli contenente le spore morirono invece dopo pochi giorni tutte quante di carbonchio. La dissezione di queste procurò una scoperta che non lasciò alcun dubbio sul fatto che l'infezione ebbe luogo a partire dall'intestino. Nel cavo orale, nella faringe e nell'esofago di questi animali non fu trovata alcuna ferita o cambiamento che avrebbe potuto far pensare ad una infezione di questi punti. I bacilli di carbonchio soccombono molto probabilmente nello stomaco, il cui contenuto ha una composizione acida, mentre le spore lo attraversano senza conseguenze, si sviluppano nel contenuto alcalino dello stomaco e si introducono nella mucosa del canale intestinale. L'analisi microscopica mette in risalto che i follicoli linfatici e le ghiandole di Peyer formano il luogo dell'invasione.

Le pecore poc'anzi citate furono alimentate con colture di carbonchio, contenenti spore fresche in quantità sufficienti. Però, in seguito, abbiamo anche dato come cibo masse contenenti spore, che furono conservate per più di un anno in condizioni asciutte. Queste uccisero le pecore di carbonchio con la stessa certezza delle spore fresche o di una vaccinazione con sangue di carbonchio. Durante questi esperimenti non abbiamo dato da mangiare quantità troppo esigue di materiale contenente spore, per poter innanzitutto stabilire la possibilità di un'infezione che parta dall'intestino. Bisogna tener presente che, se l'infezione naturale parte dall'intestino, questa si forma solitamente tramite l'assunzione di un numero molto esiguo di spore, le quali si sono mescolate, sotto forma di polvere o di pascoli paludosi e inondati, con il fango al cibo. Per questo motivo abbiamo eseguito il seguente esperimento. A dieci pecore fu dato giornalmente un pezzo di patata, nel quale era fissato un sottile filo con spore di carbonchio. I sottili fili, fatti in seta, avevano una lunghezza di appena un centimetro, nell'anno precedente furono impregnati con una quantità molto esigua di spore di carbonchio e conservati in condizioni asciutte. Due pecore, che servirono come animali di controllo, si trovarono insieme a tali animali nella stessa stalla, furono accudite nello stesso modo, ma non ricevettero nessun filo sottile contenente le spore. Su 10 pecore alimentate morì di carbonchio, di volta in volta, una pecora il 5°, il 6°, l'11° e il 19° giorno dell'alimentazione, per un totale di 4 pecore.

L'alimentazione non fu portata avanti ulteriormente.

fiel am 5., 6., 11. und 19. Tage der Fütterung je eins, insgesamt also vier Schafe an Milzbrand. Länger wurde die Fütterung nicht fortgesetzt. Die beiden Kontrolltiere waren gesund geblieben. In diesem Versuch entsprachen die in Intervallen von mehreren Tagen auftretenden Milzbrandfälle und der Sektionsbefund der gefallenen Tiere vollkommen dem Bilde des unter natürlichen Verhältnissen in einer Herde ausbrechenden Milzbrandes, und es kann demnach keinem Zweifel unterliegen, daß die natürliche Infektion vorzugsweise und in der kalten Jahreszeit wohl ausschließlich durch Milzbrandsporen stattfindet, welche in kleinen Mengen mit dem Futter in den Darm gelangen und von da aus die Krankheit erzeugen. Daß bei der Fütterung mit vielen Sporen die Schafe ausnahmslos nach einigen Tagen, nach der Fütterung mit geringen Sporenmengen aber in längeren Zwischenräumen infiziert wurden, erklärt sich daraus, daß die gefütterten Sporen nicht sämtlich im Darm auswachsen, sondern zum größten Teil unverändert den Darmkanal passieren; denn der Kot von Schafen, welche mit Sporen gefüttert waren, enthielt noch eine beträchtliche Menge unausgekeimter Milzbrandsporen, wie erfolgreiche Impfungen mit dem ein Jahr lang trocken aufbewahrten Kot ergaben. Wenn die Sporen also im Darm nur teilweise zur Wirkung kommen, dann muß die Infektion um so schneller und sicherer eintreten, je größer die Menge der verfütterten Sporen ist, denn mit der Zahl der in den Darmkanal eingeführten Sporen steigt auch die Zahl der zur Keimung gelangenden.

Bei der Sektion dieser an Darmmilzbrand gefallenen, sowie einer Anzahl durch Impfmilzbrand getöteter Schafe ergab sich noch eine bemerkenswerte Tatsache. Die Anschwellung der Lymphdrüsen war eine sehr verschiedene und ließ nur in den seltensten Fällen auf den Ort der Infektion schließen. So fanden sich nach Impfungen am Hintersehenkel beispielsweise mehrfach die Kiefer- und Achseldrüsen geschwollen, und umgekehrt zeigten sich vielfach nach Milzbrand, welcher infolge von Fütterung eingetreten war, die Kieferdrüsen unverändert, dagegen eine oder beide Inguinaldrüsen geschwollen. Die Veränderungen der Lymphdrüsen schienen sich weniger nach der Infektionsstelle als nach den subkutanen Sugillationen zu richten, welche bei milzbrandigen Schafen fast nie fehlen. Die einer Sugillation benachbarten Drüsen sind immer vorzugsweise geschwollen, und da die Sugillationen am häufigsten im lockeren Zellgewebe des Halses ihren Sitz haben, so fanden wir dementsprechend auch die am Brusteingang liegenden Drüsen am häufigsten geschwollen, demnächst folgten die Achsel- und die Kieferdrüsen.

Pasteur hatte aus der häufigen Schwellung der Kieferdrüsen geschlossen, daß die Infektionsstelle in der Maulhöhle liegen müsse. Er muß bei seinen Sektionen die übrigen Drüsen wenig beachtet haben, sonst hätte ihm das eigentümliche Verhalten derselben nicht entgangen sein können, und er würde vermutlich nicht zu der irrigen Deutung jenes Befundes gekommen sein.

Nachdem somit der Modus der natürlichen Infektion festgestellt war, konnten wir daran gehen, die nach dem Pasteurschen Verfahren präventiv geimpften Tiere auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen die natürliche Infektion zu prüfen.

Es wurden zu diesem Zwecke 8 Schafe, welche präventiv geimpft waren und als Kontrolltier ein nicht präventiv geimpftes Schaf mit zuverlässig wirksamen und von spontanem Milzbrand herrührenden Stoffen geimpft. Das Kontrolltier und eins der präventiv geimpften Schafe waren nach 2 Tagen an Milzbrand gefallen. Der Umstand, daß auch eins der präventiv geimpften Schafe milzbrandig wurde, beweist, daß der zur Kontrollimpfung verwendete Stoff eine bedeutende Virulenz besaß. Diese Kontrollimpfung mit virulentem Stoffe muß zugleich als eine weitere Schutzimpfung aufgefaßt werden, und man konnte erwarten, daß bei diesen Tieren, welche zwei Präventivimpfungen und außer-

Le due pecore di controllo rimasero sane. In questo esperimento, i casi di carbonchio comparsi ad intervalli di più giorni e il referto autoptico degli animali morti corrisposero totalmente al quadro del carbonchio che esploderebbe in un gregge in condizioni naturali e di conseguenza non deve più sussistere alcun dubbio sul fatto che, l'infezione naturale ha luogo principalmente, tranne che durante il periodo freddo, tramite le spore di carbonchio, che arrivano all'intestino in piccole quantità con l'alimentazione, e da lì sprigionano l'infezione. Il fatto che tutte le pecore, alimentate con numerose spore, dopo alcuni giorni furono infettate, cioè in seguito all'alimentazione con quantità minime di spore, ma con un intervallo più lungo, si spiega poiché, le spore date come cibo non si estendono tutte nell'intestino ma, in gran parte, attraversano immutate il canale intestinale; poiché, gli escrementi delle pecore, alimentate con le spore, contenevano ancora una quantità considerevole di spore di carbonchio non germogliate, come risultò dalle vaccinazioni effettuate con successo con gli escrementi conservati in luogo asciutto per un anno intero. Se le spore entrassero solo parzialmente in azione nell'intestino, allora l'infezione dovrebbe verificarsi in maniera tanto più veloce e sicura, quanto più è grande la quantità delle spore date da mangiare poiché, col numero delle spore introdotte nel canale intestinale, cresce anche il numero di coloro che arrivano alla germogliazione. Durante la dissezione delle pecore morte di carbonchio intestinale, e di un numero di pecore morte per via del carbonchio da vaccinazione, risultò un fatto notevole. Il rigonfiamento delle ghiandole linfatiche fu molto differente e permise di risalire al luogo dell'infezione solamente nei casi più rari. In questo modo, dopo la vaccinazione alla coscia posteriore, risultarono più gonfie le ghiandole mandibolari e ascellari e, al contrario, dopo la comparsa del carbonchio, manifestatosi in seguito all'alimentazione, le ghiandole mandibolari si mostrarono spesso invariate mentre una, o entrambe, le ghiandole inguinali rigonfie. La trasformazione delle ghiandole linfatiche sembrava si orientasse meno al luogo dell'infezione che non agli ematomi sottocutanei, i quali non mancano quasi mai nel caso di pecore affette da carbonchio. Le ghiandole vicine ad un ematoma sono sempre rigonfie e, poiché gli ematomi hanno sempre la loro sede nella parte morbida del tessuto cellulare del collo, trovammo in sua corrispondenza anche le ghiandole del petto maggiormente rigonfie, seguirono quelle ascellari e quelle mandibolari. A causa del frequente rigonfiamento delle ghiandole mandibolari, Pasteur dedusse che il luogo dell'infezione si trovasse nel cavo orale. Durante le sue dissezioni deve aver prestato poca attenzione alle restanti ghiandole, altrimenti non gli sarebbe sfuggito il loro strano comportamento e non sarebbe presumibilmente giunto all'interpretazione errata di quel reperto. Dopo che fu stabilito il modo dell'infezione naturale, potevamo accingerci ad esaminare gli animali, preventivamente vaccinati secondo il metodo di Pasteur, secondo la loro capacità di resistenza contro l'infezione naturale.

dem eine Impfung mit sehr virulenter Milzbrandsubstanz durchgemacht hatten, nunmehr das Maximum der Immunität erreicht sei.

Zwölf Tage nach der Kontrollimpfung wurden die überlebenden 7 Schafe und ein nicht präventiv geimpftes Schaf, letzteres als Kontrolltier, mit Milzbrandsporen gefüttert, und zwar waren diese Sporen in Kulturen auf Kartoffeln aus demselben Milzbrandmaterial gezüchtet, welches zur letzten Impfung der Schafe gedient hatte. Das Kontrolltier und zwei der dreifach geimpften Schafe starben innerhalb der nächsten zwei Tage am Milzbrand. Es hatte also derselbe Milzbrandstoff, welcher bei der Impfung von acht Schafen einstötete, bei der Fütterung unter sieben Schafen zwei getötet, trotzdem ihre Immunität durch die Impfung inzwischen noch erhöht war. Ich zweifle nicht, daß durch die Fütterung von Milzbrandsporen die nach Pasteurs Verfahren nur zweimal präventiv geimpften Schafe sämtlich oder doch zum größten Teil mit Milzbrand zu infizieren und zu töten sind.

Durch unseren Versuch ist der unwiderlegliche Beweis geliefert, daß die Annahme Pasteurs, die natürliche Milzbrandinfektion sei den Tieren weniger gefährlich als der Impfmilzbrand, irrig ist. Es sind im Gegenteil Schafe für die vom Darm aus stattfindende natürliche Infektion noch bei weitem zugänglicher als für den Impfmilzbrand. Wir haben gesehen, daß die Präventivimpfungen, um Schafe gegen den von Pasteur zur Kontrollimpfung gelieferten virulenten Milzbrandstoff immun zu machen, einen Verlust von ungefähr 12% bedingen. Die Immunität gegen das stärker wirkende, von spontanem Milzbrand hiesiger Gegend entnommene Gift würde ungefähr Verluste von 20% erfordern, und um Schafe gegen jede Art der Milzbrandinfektion, namentlich gegen die natürliche Infektion sicher zu schützen, müßten die Präventivimpfungen mit derartig virulenten Stoffen ausgeführt werden, daß die Verluste vermuthlich noch einmal so hoch ausfallen würden.

Die von uns in bezug auf das Verhalten präventiv geimpfter Schafe gegen die natürliche Infektion gewonnenen Resultate stehen vollkommen in Einklang mit den in Kapuvar und Packisch erhaltenen, woselbst die Versuche von Pasteurs eigenem Assistenten und vor Kommissionen von Sachverständigen ausgeführt sind. Sowohl in Kapuvar als Packisch wurden jedesmal zwei Experimente gemacht. Das erste sollte den Beweis führen, daß die Schafe durch die Präventivimpfung gegen die Wirkung eines von Pasteur aus Paris geschickten virulenten Stoffes unempfindlich geworden waren. Dieser Beweis ist entschieden gelungen, allerdings mit der Einschränkung, daß die Verluste, welche die Präventivimpfung mit sich brachte, weit höher waren, als Pasteur angenommen hatte. Der zweite Versuch sollte beweisen, daß die Präventivimpfung die Tiere auch gegen die natürliche Infektion schütze; dieser Beweis ist aber, wie ich gleich vorweg bemerken will, vollständig mißlungen. Um die geimpften Schafe auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen die natürliche Infektion zu prüfen, hatten beide Kommissionen den Weg eingeschlagen, daß sie die Tiere nach der Impfung zugleich mit einer entsprechenden Anzahl nicht geimpfter Tiere auf solche Weiden bringen ließen, wo erfahrungsgemäß Milzbrand herrscht. Diese Anordnung des Experimentes ist insofern ein unvollkommenes, als sie dem Zufall einen zu großen Spielraum läßt. Die Milzbranderkrankungen ereignen sich nämlich in einer Herde nicht sofort, wenn dieselbe auf eine infizierte Weide geführt wird, auch sind die einzelnen Fälle nicht der Zeit nach gleichmäßig verteilt, sondern die Seuche kann längere Pausen machen, dann sprungweise auftreten, auch könnten zufälligerweise unter den nicht geimpften Tieren Milzbrandfälle vorkommen und die geimpften verschont bleiben, ohne daß damit die Immunität der letzteren einwandfrei erwiesen sein würde, weil es sich nicht feststellen läßt, daß alle Tiere gleichmäßig, wie in dem von uns ange-

A questo scopo furono vaccinate, con sostanze provenienti dal carbonchio spontaneo, 8 pecore, preventivamente vaccinate, e una pecora, utilizzata come cavia, non preventivamente vaccinata. La cavia e una delle pecore preventivamente vaccinate, morirono dopo 2 giorni di carbonchio. Il fatto che, anche una delle pecore preventivamente vaccinate contrasse il carbonchio dimostra che, la sostanza utilizzata per la vaccinazione di controllo possedeva una significativa virulenza. Questa vaccinazione di controllo con sostanza virulenta, deve essere considerata allo stesso tempo come un'ulteriore vaccinazione di protezione e c'era da aspettarsi che, con questi animali, sottoposti oltre che a due vaccinazioni preventive, a una vaccinazione con una sostanza di carbonchio molto virulenta, perlomeno fosse raggiunto il massimo dell'immunità.

Dodici giorni dopo la vaccinazione di controllo, le 7 pecore sopravvissute e una pecora non preventivamente vaccinata, usata come animale di controllo, furono alimentate con spore di carbonchio, e queste spore furono coltivate con lo stesso materiale di carbonchio in colture di patate, che servì per l'ultima vaccinazione delle pecore. L'animale di controllo, e due delle pecore vaccinate tre volte, morirono entro i due giorni successivi di carbonchio. La stessa sostanza di carbonchio che, durante la vaccinazione, uccise una tra otto pecore, ha ucciso, durante l'alimentazione, due pecore tra sette, nonostante nel frattempo la loro immunità fosse aumentata. Non dubito che, tramite l'alimentazione con spore di carbonchio, le pecore vaccinate preventivamente due volte secondo il metodo di Pasteur siano, totalmente o in gran parte, da infettare o uccidere col carbonchio.

Con il nostro esperimento è dimostrata l'inconfutabile prova che l'ipotesi di Pasteur, secondo la quale l'infezione naturale da carbonchio sia per gli animali meno pericolosa rispetto al carbonchio da vaccinazione, è falsa. Al contrario, si tratta di pecore, molto più soggette all'infezione naturale nell'intestino che non al carbonchio da vaccinazione. Abbiamo visto che, le vaccinazioni preventive, per rendere immuni le pecore dalla sostanza di carbonchio fornita da Pasteur per la vaccinazione di controllo, apportano una perdita del 12% circa. L'immunità dal veleno ad azione più forte, prelevato dal carbonchio spontaneo locale, procurerebbe delle perdite del 20% circa e, per ben proteggere le pecore contro ogni tipo di infezione da carbonchio, soprattutto dall'infezione naturale, le vaccinazioni preventive dovrebbero essere eseguite con tali sostanze virulente, in modo che le perdite possano ancora una volta essere, così ampiamente, assenti.

I risultati da noi ottenuti, riguardo al comportamento delle pecore preventivamente vaccinate contro l'infezione naturale, sono pienamente in accordo con quelli ottenuti a Kapuvar e Packisch dove, gli stessi esperimenti dell'assistente personale di Pasteur, sono condotti davanti ad una commissione di esperti. Sia a Kapuvar che a Packisch furono condotti ogni volta due esperimenti. Il primo doveva fornire la prova che le pecore, tramite la vaccinazione preventiva contro l'effetto di una sostanza virulenta inviata da Pasteur da Parigi, fossero diventate insensibili. Questa prova è decisamente riuscita, ma con la limitazione che le perdite, apportate dalla vaccinazione preventiva, furono nettamente superiori di quanto Pasteur avesse immaginato. Il secondo esperimento doveva dimostrare che, la vaccinazione preventiva proteggesse gli animali anche dall'infezione naturale; questa prova però, come dimostrerò subito prima di tutto, è del tutto fallita. Per esaminare la capacità di reazione all'infezione naturale delle pecore vaccinate, entrambe le commissioni presero la decisione di portare le pecore, dopo la vaccinazione, insieme ad una quantità di pecore non vaccinate, su un pascolo in cui, per esperienza si sa che, regna il carbonchio. Questa disposizione dell'esperimento è incompleta in quanto lascia al caso un margine d'azione troppo vasto. Le affezioni da carbonchio non si verificano immediatamente in un gregge portato su un pascolo infetto, e anche i singoli casi non sono distribuiti equamente nel tempo, ma l'epidemia può fare lunghe pause, per poi manifestarsi improvvisamente; potrebbero anche manifestarsi casualmente, tra gli animali non vaccinati, casi di carbonchio, mentre quelli vaccinati restare illesi, senza che in tal modo l'immunità di quest'ultimi possa essere dimostrata impeccabilmente, dato che non si può stabilire che tutti gli animali furono esposti regolarmente, come nell'esperimento di alimentazione da noi condotto, all'infezione naturale.

stellten Fütterungsversuch, der natürlichen Infektion ausgesetzt waren. Das Sterben der nicht geimpften Tiere an Milzbrand hätte also für die Präventivimpfung bei dieser Versuchsanordnung wenig oder gar nichts bewiesen. Die Infektion der geimpften Tiere muß dagegen einen unumstößlichen Beweis gegen Pasteurs Theorie liefern.

Die Versuche in Kapuvar und Packisch haben nun folgenden Verlauf genommen: In Kapuvar wurden vom 28. September bis 10. Oktober 267 Schafe mit premier und deuxième vaccin geimpft. Nach der ersten Impfung starben 3 und nach der zweiten Impfung 10 Schafe an Milzbrand. Von 221 nicht geimpften Kontrolltieren fiel in der gleichen Zeit nur 1 Schaf an Milzbrand. Nach den Verlusten zu urteilen, welche die Präventivimpfung bewirkte, war der Impfstoff ziemlich kräftig. Die 254 überlebenden geimpften Schafe und die 220 nicht geimpften wurden dann auf die gewöhnliche Weide getrieben: Nach einem in der Wiener landwirtschaftlichen Zeitung veröffentlichten Bericht vom 27. August d. J. sind bis dahin von den geimpften Schafen 2 Stück an spontanem Milzbrand und 3 Stück an einer anderen Krankheit, von den nicht geimpften 4 Stück an Milzbrand und 1 Stück an einer anderen Krankheit gefallen.

In Packisch wurden in der Zeit vom 10. bis 20. Mai d. J. 251 Schafe zweimal geimpft und 231 Schafe blieben ungeimpft. Nach der ersten Impfung starb keins der Tiere und infolge der zweiten Impfung erlag nur ein Schaf.

Zur Prüfung ihrer Immunität wurden darauf 24 von diesen präventiv geimpften Schafen mit Pasteurs virulenterem Stoff nachgeimpft, worauf ein Schaf nach 2 Tagen und eins nach 14 Tagen an Milzbrand fiel. Die Deutung dieses letzteren Falles als Folge der Kontrollimpfung erscheint mir etwas gezwungen; denn es ist mir unter den zahlreichen Fällen von Impfmilzbrand, welche ich zu beobachten Gelegenheit gehabt habe, noch nie eine so lange Inkubationsdauer vorgekommen. Es dürfte dieser Fall auch schon auf Rechnung der natürlichen Infektion zu setzen sein.

Im Laufe der Monate Juli und August, also wenige Monate nach der Impfung, sind nun von den geimpften Schafen 3 an Milzbrand, 1 unter Erscheinungen, welche denjenigen des Milzbrandes gleich waren, aber wegen weit vorgeschrittener Fäulnis der Leiche eine sichere Diagnose nicht mehr gestatteteten, 2 an anderen Krankheiten gestorben. Von den nicht geimpften fielen 8 Tiere an Milzbrand. Außerdem ist in Packisch von 83 Stück präventiv geimpften Rindern 1 Stück an Milzbrand gefallen¹⁾.

Der Unterschied zwischen den Verlusten der geimpften und der nicht geimpften Tiere ist in beiden Versuchsreihen so unbedeutend²⁾ und liegt bei der in diesen Versuchen gewählten Anordnung so vollständig noch innerhalb der Grenzen des dem Zufall Unterworfenen, daß von einem eigentlichen Schutz der geimpften Tiere gegen die natürliche Infektion keine Rede sein kann. Die Versuche von Kapuvar und Packisch sind also entschieden zuungunsten der Pasteurschen Theorie ausgefallen.

Auch die schon früher erwähnten Versuche in Besuchery und Montpothier, über welche Mathieu berichtete, haben zu gleichen Resultaten geführt. In diesen Versuchen sind Vakzins verimpft, welche von Pasteur nach dem 1. April d. J. geliefert sind und seiner Angabe nach besonders gut sein sollen. Der Einwand, daß der Impfstoff zu schwach gewesen sei, kann demnach hier nicht zur Geltung kommen. In Besuchery wurden vom 25. April bis 8. Mai d. J. 296 Lämmer geimpft und in der Zeit vom 22. bis 24. Juni fielen davon 4 Lämmer an spontanem Milzbrand, während 80 zur selben Herde gehörige, aber nicht geimpfte Schafe keine Verluste hatten. In Montpothier

¹⁾ Archiv für wissenschaftliche und praktische Tierheilkunde VIII, 6, p. 468.

²⁾ Nach einer mir zugegangenen Mitteilung ist kürzlich wieder eins der präventiv geimpften Schafe in Packisch an Milzbrand gefallen, so daß die geimpften Tiere jetzt 6, die ungeimpften 8 Fälle von natürlicher Infektion aufweisen.

l' La morte per carbonchio degli animali non vaccinati non avrebbe quindi rappresentato molto, o addirittura niente, per la vaccinazione preventiva in questa disposizione sperimentale. L'infezione degli animali vaccinati deve, per contro, apportare un prova incontrovertibile contro la teoria di Pasteur.

Gli esperimenti di Kapuvar e Pakisch hanno preso il seguente corso: a Kapuvar, dal 28 settembre al 10 ottobre, furono vaccinate 267 pecore con il primo e il secondo vaccino. Dopo la prima vaccinazione morirono 3 pecore di carbonchio e dopo la seconda ne morirono 10. Su 221 animali di controllo non vaccinati, morì contemporaneamente solo una pecora di carbonchio. A giudicare in base alle perdite, procurate dalle vaccinazioni preventive, la sostanza inoculante fu abbastanza forte. Le 254 pecore vaccinate sopravvissute, e le 220 non vaccinate, furono allora condotte sul solito pascolo. Secondo un commento apparso il 27 agosto c.a. nel giornale viennese dell'agricoltura, fino ad allora, tra le pecore vaccinate, 2 sono morte di carbonchio spontaneo e 3 di un'altra malattia; tra le pecore non vaccinate, 4 sono morte di carbonchio e 1 di un'altra malattia.

A Pakisch, nell'arco di tempo tra il 10 e il 20 maggio c.a. , 251 pecore furono vaccinate due volte, mentre 231 rimasero prive di vaccinazione. Dopo la prima vaccinazione, nessuna delle pecore morì e, dopo la seconda, solo una.

Per la verifica della loro immunità, 24 di queste pecore preventivamente vaccinate furono vaccinate nuovamente con la sostanza virulenta di Pasteur, per cui morì una pecora dopo 2 giorni e una dopo 14 giorni di carbonchio. L'interpretazione di quest'ultimo caso come conseguenza della vaccinazione di controllo, mi pare un po' azzardata; poiché, tra tutti i numerosi casi di carbonchio da vaccinazione, che ho avuto la possibilità di osservare, non mi è ancora capitata una così lunga durata di incubazione. Questo caso sarebbe da mettere già sul conto dell'infezione naturale.

Nel corso dei mesi di luglio e agosto , quindi pochi mesi dopo la vaccinazione, tra le pecore vaccinate morirono 3 di carbonchio, 1 dalle apparenze simili al carbonchio ma, una diagnosi precisa non fu possibile a causa dell'avanzato stato di decomposizione del corpo, e 2 di malattie diverse. Tra quelle non vaccinate, 8 pecore morirono di carbonchio. Tra l'altro, a Pakisch, tra 83 bovini preventivamente vaccinati, 1 è morto di carbonchio⁸.

La differenza tra le perdite degli animali vaccinati e non è, in entrambe le fila sperimentali, talmente insignificante⁹ e sta, nella disposizione scelta per questo esperimento, completamente all'interno dei confini di quello sottoposto al caso, che non è possibile parlare di una vera e propria protezione degli animali vaccinati contro l'infezione naturale. Gli esperimenti di Kapuvar e Pakisch sono quindi categoricamente caduti a svantaggio della teoria di Pasteur.

Anche gli esperimenti a Beauchery e Montpothier, citati in precedenza e commentati da Mathieu, portarono agli stessi risultati. In questi esperimenti vengono applicati i vaccini, forniti da Pasteur dopo il 1. aprile c.a. e che, secondo il suo parere, dovrebbero essere molto efficaci. L'obiezione che la sostanza inoculante fosse troppo debole, non può perciò essere presa qui in considerazione. A Beauchery, dal 25 aprile all'8 maggio c.a. , furono vaccinati 296 agnelli e, nell'arco di tempo dal 22 al 24 giugno, ne morirono 4 di carbonchio spontaneo, mentre 80 pecore, appartenenti allo stesso gregge ma non vaccinate, non ebbero nessuna perdita.

⁸ Archivio di medicina veterinaria scientifica e pratica VIII, 6, p. 468.

⁹ Secondo una comunicazione pervenutami, una delle pecore preventivamente vaccinate a Pakisch è morta di carbonchio, così che ora gli animali vaccinati presentano 6 casi di infezione naturale, quelli non vaccinati 8.

Koch, Opere Complete.

starben sogar nach einer dreimaligen Präventivimpfung von 203 Hammeln ungefähr einen Monat nach der letzten Impfung 6 Tiere an Milzbrand.

Es muß auffällig erscheinen, daß bis jetzt so spärliche Erfahrungen über die Immunität der präventiv geimpften Tiere gegen die natürliche Infektion mitgeteilt, wenigstens so publiziert sind, daß sie wissenschaftlich zu gebrauchen sind. Das, was von mir im Vorhergehenden zusammengestellt wurde, macht so ziemlich alles aus, was darüber zur Kenntnis gekommen ist. Die bis jetzt vorliegenden Tatsachen sprechen, wie man sieht, sämtlich gegen den Nutzen der Präventivimpfung. Daß aber noch außerdem ungünstige Erfahrungen in nicht geringer Zahl gemacht sein müssen, geht aus der schon zitierten Äußerung Pasteurs in der Société centr. de méd. vétér. vom 8. Juni hervor, daß ihm noch viele andere Mißerfolge bekannt geworden seien, welche in der schlechten Beschaffenheit des im Winter zur Versendung abgegebenen Vakzins ihren Grund hätten.

Damals konnte man diese Entschuldigung wohl noch gelten lassen. Seitdem haben sich aber dieselben Mißerfolge auch nach der Impfung mit später geliefertem kräftigen Impfstoff herausgestellt. Pasteur muß auch von diesen Tatsachen Kenntnis gehabt haben, als er seinen Vortrag in Genf hielt, er mußte namentlich den Mißerfolg des Versuchs in Packisch ebensogut schon gewußt haben, wie ich ihn damals schon kannte. Alles das hat ihn aber nicht abgehalten, in Genf von dem Versuch in Packisch nur den günstigen Verlauf der Präventivimpfung an 250 Schafen zu erwähnen, welche selbstverständlich einen so günstigen Verlauf nehmen mußte, weil sehr wenig virulente Impfstoffe zur Verwendung gekommen waren. Die damals schon bekannten Todesfälle an natürlichem Milzbrand, welche sich unter diesen Tieren ereignet hatten, verschwieg Pasteur. Er hat ebenso alle die in Frankreich bekannt gewordenen ungünstig für ihn ausgefallenen Erfahrungen verschwiegen und die wichtigen, doch ebenfalls von seinem Assistenten und vor einer Kommission ausgeführten Versuche in Ungarn mit keinem Worte erwähnt.

Pasteur befolgt also die Taktik, von seinem Experiment nur soviel mitzuteilen, als zu seinen Gunsten spricht, das aber, was ihm ungünstig ist, selbst wenn darin die Entscheidung des Experimentes liegt, zu verschweigen. Ein solches Verfahren mag für eine Geschäftsreklame angemessen sein, aber in der Wissenschaft muß dasselbe mit aller Entschiedenheit zurückgewiesen werden. An die Spitze seines Genfer Vortrages hat Pasteur die Worte gestellt: *Nous avons tous une passion supérieure, la passion de vérité.* Mit diesen Worten ist die von Pasteur befolgte Taktik nicht in Einklang zu bringen und er wird nicht umhin können, über diese Angelegenheit eine befriedigende Aufklärung zu geben.

Das bis jetzt vorliegende Material ist im ganzen genommen schon ausreichend, um ein bestimmtes Urteil über die nach Pasteurs Methode ausgeführte Milzbrand-Präventivimpfung zu gewinnen. Dasselbe würde sich folgendermaßen gestalten: Die Milzbrandbazillen können durch eine eigentümliche Behandlung abgeschwächt werden und als Impfstoff gegen virulenteren Stoffe, als sie selbst in dem abgeschwächten Zustande sind, verwertet werden. Die Immunität ist nicht bei allen Tierspezies zu erreichen. Bis jetzt ist das Pasteursche Verfahren anscheinend nur auf Rinder und Schafe anzuwenden. Mit diesem Verfahren sind, wenn Tiere vollständig immun gemacht und insbesondere gegen die natürliche Infektion geschützt werden sollen, bedeutende Verluste verbunden. Je geringer die Verluste bei der Präventivimpfung sind, um so geringer fällt auch der Schutz aus, welcher damit erzielt wird.

In bezug auf die praktische Verwertung sind noch einige weitere Verhältnisse von der höchsten Bedeutung: Zunächst die Frage, wie lange der Impfschutz vorhält. Hierüber sind bis jetzt noch sehr unzureichende Erfahrungen gemacht, aber Pasteur

A Montpothier, dopo una triplice vaccinazione preventiva, morirono di carbonchio addirittura 6 montoni su 203, dopo circa un mese dopo l'ultima vaccinazione.

Deve sembrare strano che, fino ad ora siano state comunicate, quanto meno pubblicate, così poche esperienze sull'immunità degli animali preventivamente vaccinati contro l'infezione naturale, che possano essere utilizzate scientificamente. Ciò che è stato composto da me in precedenza, costituisce pressappoco ciò che, sull'argomento, è giunto alla conoscenza. I fatti esistenti fino ad oggi parlano, come si vede, tutti quanti contro l'utilizzo della vaccinazione preventiva. Che però, inoltre, debbano essere fatte ancora esperienze sfavorevoli in quantità non esigua, emerge dalla già citata osservazione di Pasteur nella Società Generale di medicina veterinaria dell'8 giugno, che cioè fosse a conoscenza di numerosi altri insuccessi, che sarebbero motivati dalle cattive condizioni del vaccino, consegnato in inverno per la spedizione.

In passato, si poteva ancora accettare tale giustificazione. Da allora, gli stessi insuccessi si sono però presentati anche dopo la vaccinazione con una sostanza inoculante forte, consegnata in seguito. Pasteur doveva essere a conoscenza anche di questi fatti, quando tenne la sua conferenza a Ginevra; soprattutto, deve aver saputo dell'insuccesso dell'esperimento a Packisch altrettanto bene quanto, già allora, lo conobbi io. Tutto questo però non lo trattenne dal citare, a Ginevra, solamente il percorso favorevole della vaccinazione preventiva a Packisch su 250 pecore, le quali presero un percorso così favorevole, naturalmente perché furono utilizzate pochissime sostanze inoculanti virulente. I casi di morte di carbonchio naturale, già conosciuti in passato e presentatisi tra questi animali, furono taciuti da Pasteur. Tacque anche su tutte quelle esperienze, note in Francia e per lui non favorevoli e, non disse una parola, nemmeno su quegli esperimenti importanti, effettuati in Ungheria dal suo assistente davanti ad una commissione.

Pasteur segue quindi la tattica di dire dei suoi esperimenti, solo ciò che gli conviene e di tacere invece su ciò che gli pareva inconveniente, pur se da ciò dipendeva l'esito dell'esperimento. Un metodo tale può essere adeguato per una pubblicità commerciale ma, in ambito scientifico, deve essere respinto con assoluta fermezza. Al culmine della sua conferenza tenuta a Ginevra, Pasteur ha pronunciato le seguenti parole: "Tutti quanti abbiamo una passione superiore, la passione per la verità". Queste parole non si possono conciliare con la tattica perseguita da Pasteur, e lui non riuscirà a dare una spiegazione soddisfacente su questa faccenda.

nimmt an, daß die Tiere ungefähr für die Dauer eines Jahres geschützt sind und alljährlich von neuem geimpft werden müssen. Wenn dies richtig ist, dann würden die Verluste infolge der Impfung diejenigen, welche eine Folge der spontanen Krankheit sind, selbst in den am ärgsten von Milzbrand heimgesuchten Gegenden weit übertreffen. Ferner ist noch die hygienische Bedeutung der Präventivimpfung in Betracht zu ziehen. Es ist nämlich nicht zu vergessen, daß die Impfung zum Teil mit dem *deuxième vaccin* vorgenommen wird, einem Stoff, welcher imstande ist, Schafe zu töten, also in seiner unmittelbaren Wirkung auf diese Tiere dem natürlichen Milzbrandstoff nicht viel nachgibt. Es ist auch sehr wahrscheinlich, daß dieses nur mäßig abgeschwächte Krankheitsgift für den Menschen noch nicht ganz ungefährlich geworden ist. Danach muß es aber bedenklich erscheinen, ein solches Gift durch die Verimpfung auf viele Tausende von Schafen überallhin zu verschleppen, die Möglichkeit der Infektion für die nicht geimpften Tiere dadurch zu vervielfältigen und schließlich durch den Verkehr mit der Wolle und den Konsum des Fleisches von kurz zuvor geimpften Tieren Gefahren für den Menschen herbeizuführen. Ich erinnere in dieser Beziehung nur an die Schafpocken, eine Krankheit, welche mit verhältnismäßig geringen Verlusten sich verimpfen läßt, den geimpften Tieren einen sicheren Schutz verschafft und für den Menschen keine Gefahren bietet. Trotzdem ist man zu der Überzeugung gekommen, daß die Schafpockenimpfung am meisten dazu beiträgt, die Schafpocken zu unterhalten und überallhin zu verbreiten und man hat sich infolgedessen veranlaßt gesehen, dieselbe geradezu zu verbieten.

Die Pasteursche Präventivimpfung ist demnach wegen des unzulänglichen Schutzes, welchen sie gegen die natürliche Infektion gewährt, wegen der kurzen Dauer ihrer schützenden Wirkung und wegen der Gefahren, welche sie für Menschen und nicht geimpfte Tiere bedingt, als praktisch verwertbar nicht zu bezeichnen. Es soll damit nicht gesagt sein, daß die Präventivimpfung überhaupt keine Zukunft besitzt, sondern nur, daß die von Pasteur in Vorschlag gebrachte Methode an den erwähnten Mängeln leidet und deswegen unbrauchbar ist. Andere verbesserte Methoden werden vielleicht später das leisten, was man jetzt schon in vorläufiger Weise von diesem unvollkommenen Verfahren erwartet hat.

So fraglich nun auch der Nutzen ist, welchen augenblicklich die Praxis von der Präventivimpfung mit dem abgeschwächten Milzbrandgift ziehen kann, so resultiert doch für die Wissenschaft ein großer Gewinn aus der Entdeckung, daß die Milzbrandbazillen abgeschwächt und als Impfstoff benutzt werden können.

Schon vor Pasteur hatte Toussaint gefunden, daß Milzbrandblut durch Behandlung mit verschiedenen Agentien, so durch Zusatz von 1% Karbolsäure oder durch Erwärmung auf 55° C, in seiner Virulenz herabgesetzt, also abgeschwächt wird und daß die subkutane Injektion eines in dieser Weise veränderten Blutes Schafe und junge Hunde gegen Impfung mit unabgeschwächtem Milzbrandgift immun macht. Damit war die Tatsache, daß das Milzbrandvirus abgeschwächt und als Mittel zur Immunisierung gebraucht werden kann, gefunden und Toussaint muß als der eigentliche Entdecker derselben bezeichnet werden. Doch war Toussaints Verfahren ein sehr unsicheres und seine Vorstellung von der Wirkung des abgeschwächten Virus eine irrige. Während Toussaint darauf ausgegangen war, die Milzbrandbazillen aus dem Blute zu entfernen oder sie zu töten, ist es Pasteurs großes Verdienst, den Beweis geführt zu haben, daß gerade die Milzbrandbazillen denjenigen Bestandteil des Blutes bilden, welcher verändert und abgeschwächt werden muß, und daß die neuen Eigenschaften sich auch in den Nachkommen der abgeschwächten Bazillen erhalten lassen. Gerade

Il materiale fino ad ora esistente è, in complesso, già sufficiente per poter ricavare un'opinione specifica sulla vaccinazione preventiva anti-carbonchio condotta secondo il metodo di Pasteur. Questa si presenterebbe come segue: i bacilli di carbonchio possono essere indeboliti con un trattamento caratteristico ed essere utilizzati come sostanza inoculante contro sostanze più virulente, di quanto non lo siano loro stessi in condizione indebolita. L'immunità non si può raggiungere su tutte le razze animali. Fino ad ora pare che, il metodo di Pasteur si possa utilizzare solo sui bovini e le pecore. A questo metodo sono legati significativi insuccessi, se gli animali devono essere resi completamente immuni e protetti soprattutto contro l'infezione naturale. Quanto più sono basse le perdite durante la vaccinazione preventiva, minore è la protezione che così viene raggiunta.

In relazione all'utilizzazione pratica, ci sono ancora alcuni ulteriori comportamenti che rivestono un significato importante: innanzitutto la domanda su quanto dura la protezione inoculante. A questo proposito sono state fatte troppo poche esperienze, ma Pasteur suppone che, gli animali siano protetti per la durata di circa un anno e annualmente debbano essere vaccinati nuovamente. Se questo è vero, allora le perdite successive alla vaccinazione dovrebbero superare ampiamente quelle, che sono una conseguenza della malattia spontanea, proprio nelle zone maggiormente colpite dal carbonchio. Inoltre, è da prendere in considerazione ancora l'importanza igienica della vaccinazione preventiva. Non bisogna infatti dimenticare, che la vaccinazione viene, in parte, effettuata con il secondo vaccino, una sostanza in grado di uccidere le pecore, quindi col suo effetto immediato su questi animali non si piega molto alla sostanza di carbonchio naturale. E' anche molto probabile che questo veleno infettivo, solo moderatamente indebolito, non sia diventato del tutto innocuo per l'uomo. Quindi, deve far riflettere il fatto di trasmettere un simile veleno da per tutto, tramite la vaccinazione su molte migliaia di pecore, di riprodurre così la possibilità dell'infezione per gli animali non vaccinati e, infine, di provocare pericoli per l'uomo tramite il traffico della lana e della carne di animali vaccinati poco prima. In questa relazione farò riferimento solo al vaiolo delle pecore, una malattia che può essere vaccinata con perdite relativamente minime, che procura agli animali vaccinati una protezione sicura e che non rappresenta per l'uomo alcun pericolo. Nonostante tutto, si è giunti alla convinzione che, la vaccinazione contro il vaiolo delle pecore, la maggior parte delle volte contribuisce a sostenere e diffondere ovunque i vaioloidi e, in seguito a ciò, ci si è visti costretti addirittura a proibirla.

La vaccinazione preventiva di Pasteur non è, perciò, definibile come utilizzabile praticamente, per via della protezione insufficiente che procura contro l'infezione naturale, per via della breve durata del suo effetto protettivo e per via dei pericoli che rappresenta per gli uomini e per gli animali non vaccinati. Con questo non è detto che, la vaccinazione preventiva non possieda alcun futuro, ma solamente che, il metodo suggerito da Pasteur presenta le carenze citate e perciò è inutilizzabile. Altri metodi migliorati renderanno forse in futuro ciò che ora, in modo precipitoso, ci si è aspettato da questo metodo incompleto.

Quanto più è incerta anche l'utilità, che la pratica della vaccinazione preventiva può ricavare attualmente dal veleno di carbonchio indebolito, tanto più risulta per la scienza un grosso guadagno dalla scoperta che, i bacilli di carbonchio possono essere utilizzati indeboliti e come sostanza inoculante. Già prima di Pasteur, Toussaint aveva scoperto che, il sangue di carbonchio con il trattamento con diversi agenti, ad esempio con l'aggiunta dell'1% di acido fenolico o col riscaldamento a 55° C, viene diminuito, ovvero indebolito, nella sua virulenza e che l'iniezione sottocutanea con un tale tipo di sangue modificato, rende immuni le pecore e i cani giovani contro la vaccinazione con veleno di carbonchio non indebolito. In questo modo fu scoperto il fatto che, il virus da carbonchio può essere utilizzato indebolito e come metodo per l'immunità e Toussaint deve essere indicato come il vero scopritore della stessa. Ma, il metodo di Toussaint fu comunque molto insicuro e la sua idea della reazione del virus indebolito errata. Mentre Toussaint partì dal presupposto di allontanare i bacilli di carbonchio dal sangue o di ucciderli, è gran merito di Pasteur l'aver fornito la prova che, i bacilli di carbonchio formano quel componente del sangue, che deve essere cambiato e indebolito e che le nuove caratteristiche si mantengono anche nel raggiungimento dei bacilli indeboliti.

in diesem letzterwähnten Umstande liegt die hohe wissenschaftliche Bedeutung der Entdeckung. Es ist damit zum erstenmal in einer exakten und gegen jeden Einwand gesicherten Weise der Beweis geliefert, daß eine pathogene Bakterienart unter ganz bestimmten Bedingungen ihre pathogenen Eigenschaften verliert, ohne dabei jedoch morphologisch verändert zu werden. Diese Tatsache ist nicht allein für die ätiologische Forschung, sondern in gleichem Maße auch für die biologische Wissenschaft vom höchsten Interesse und wird unzweifelhaft zu weiteren wichtigen Entdeckungen den Weg zeigen. So groß nun aber auch Pasteurs Verdienst um diese wertvolle Bereicherung der Wissenschaft ist, so erscheint es doch als eine Ungerechtigkeit, daß, wenn von der Entdeckung der Abschwächung des Milzbrandgiftes und der künstlichen Immunität die Rede ist, der Name Toussaints, wie es neuerdings regelmäßig geschieht, entweder ganz in den Hintergrund gestellt oder überhaupt gar nicht erwähnt wird. Um jeden Schein der Parteinahme in dieser Sache von mir fernzuhalten, will ich nur an die Worte erinnern, welche Bouley, der eifrigste Anhänger Pasteurs, in der Sitzung der Akademie am 8. März 1881 sprach, in derselben Sitzung, in welcher Bouley der Akademie auch den Bericht über Pasteurs Abschwächungsversuche vortrug. Er sagte: „Je maintiens que M. Toussaint a le mérite d'avoir démontré, par un procédé qui lui appartient, que le virus charbonneux pouvait être transformé en virus vaccinal contre lui-même. M. Toussaint est l'inventeur de la méthode dont il s'est servi, et cette méthode, il l'a prouvée efficace, et, le premier, il a résolu scientifiquement le problème de l'atténuation du virus charbonneux et de sa transformation en virus vaccinal.“

Auch das Verfahren, mittels dessen das Milzbrandvirus in einen Impfstoff verwandelt wird, ist durch Pasteur bedeutend verbessert worden. Im Grunde genommen macht es vom rein wissenschaftlichen Standpunkte aus betrachtet, im Gegensatz zum praktischen Standpunkt, keinen wesentlichen Unterschied, ob mit der Präventivimpfung ein größerer oder geringerer Verlust an Tieren verbunden ist. Der Wissenschaft kommt es allein auf die Tatsache an, daß eine künstliche Immunität sich erzielen läßt. Das Toussaintsche Verfahren lieferte nun aber so unsichere Resultate, daß dieselben anfangs wenig beweisend erschienen, während nach der Pasteurschen Methode der Beweis für das Gelingen der künstlichen Immunisierung in vollem Umfange erbracht ist.

Die Erklärung, welche Pasteur für den bei der Abschwächung der Bazillen stattfindenden Vorgang gibt, möchte ich indessen nicht für zutreffend halten.

Pasteur nimmt nämlich an, daß es der Einfluß des Sauerstoffs sei, welcher die Abschwächung im Laufe einer bestimmten Zeit bewirkt. Die höhere Temperatur wendet er daneben nur in der Absicht an, um die Bazillen an der Sporenbildung und Umwandlung in einen für die Wirkung des Sauerstoffs unzugänglichen Zustand zu verhindern. Nun sprechen aber manche Umstände dafür, daß weniger der Sauerstoff der Luft als höhere Temperaturgrade und außerdem eigentümliche, beim Stoffwechsel der Bakterien entstehende Produkte auf die Bazillen schädlich und abschwächend einwirken.

In bezug auf die abschwächende Wirkung der Temperatur lassen sich folgende Tatsachen geltend machen. Toussaint hatte gefunden, daß das Milzbrandblut, wenn es 10 Minuten lang auf 55° C erwärmt wird, seine Virulenz zum großen Teil verliert und in einen Impfstoff verwandelt wird. Diese Beobachtung hat Chauveau weiter verfolgt und vor kurzem Mitteilungen über seine höchst interessanten Versuche gemacht. Letztere haben ergeben, daß die Abschwächung um so langsamer zustande kommt, je niedriger die auf das Milzbrandblut einwirkende Temperatur ist. Bei 52° C wird die Abschwächung in 15 Minuten, bei 50° C in 20 Minuten erreicht. Dieselbe Erscheinung

Proprio in quest'ultima circostanza appena citata sta il significato altamente scientifico della scoperta. Così, per la prima volta e in modo esattamente sicuro contro ogni obiezione, è fornita la prova che una tipologia di batteri patogeni, in condizioni del tutto particolari, perde le sue caratteristiche patogene, senza venirne, per contro, modificata morfologicamente. Questo fatto non è interessante solamente per la ricerca eziologia, ma allo stesso modo anche per la scienza biologica e aprirà indubbiamente la strada anche ad altre importanti scoperte. Per quanto sia grande anche il merito di Pasteur per questo valoroso arricchimento della scienza, così appare però come un'ingiustizia che, quando si parla della scoperta dell'indebolimento del veleno di carbonchio e dell'immunità artificiale, il nome di Toussaint venga messo del tutto in secondo piano o nemmeno citato. Per tenere lontana da me ogni apparenza di una presa di posizione in questa faccenda, voglio solo ricordare le parole di Bouley, il più assiduo sostenitore di Pasteur, durante la seduta dell'accademia, l'8 marzo 1881, la stessa seduta in cui Bouley espose all'accademia la relazione di Pasteur sugli esperimenti di indebolimento. Egli disse: "Sostengo che M. Toussaint abbia il merito di aver dimostrato, con un procedimento che gli appartiene, che il virus di carbonchio poteva essere trasformato in virus inoculante contro se stesso. M. Toussaint è l'inventore del metodo di cui si è servito e, questo metodo, l'ha trovato efficace e innanzitutto ha risolto scientificamente il problema dell'attenuazione del virus di carbonchio e della sua trasformazione in virus inoculante".

Anche il metodo, per mezzo del quale il virus di carbonchio viene trasformato in una sostanza inoculante, è stato notevolmente migliorato da Pasteur. In fin dei conti, visto dal puro punto di vista scientifico, al contrario del punto di vista pratico, non fa alcuna differenza se alla vaccinazione preventiva è legata una perdita di animali più o meno grossa. Alla scienza importa solo il fatto che si possa raggiungere un'immunità artificiale. Il metodo di Toussaint fornì però dei risultati talmente incerti, da apparire inizialmente poco dimostrabili mentre, secondo il metodo di Pasteur, la prova per la riuscita dell'immunità artificiale è stata prodotta ampiamente.

Però, non voglio ritenere fondata la spiegazione, che Pasteur dà per il processo avente luogo con l'indebolimento dei bacilli.

Pasteur infatti ritiene che, sia l'influsso dell'ossigeno a procurare l'indebolimento nel corso di un determinato arco di tempo. La temperatura elevata la applica solamente con lo scopo di impedire che i bacilli, durante la formazione delle spore e della trasformazione, assumano uno stato inaccessibile per l'effetto dell'ossigeno. Molte circostanze parlano a favore del fatto che, l'ossigeno dell'aria agisca meno in maniera dannosa e indebolente sui bacilli, rispetto alle alte temperature e ai prodotti strani, risultanti dal cambio di sostanza dei batteri.

In relazione all'effetto indebolente della temperatura, si fanno valere i seguenti fatti. Toussaint scoprì che, se il sangue di carbonchio viene riscaldato per 10 minuti a 55°C perde quasi totalmente la sua virulenza e viene trasformato in una sostanza inoculante. Chauveau ha portato avanti questa osservazione e ha, da poco, fatto un comunicato sui suoi più importanti esperimenti. Questi hanno fatto emergere che, l'indebolimento avviene tanto più lentamente, quanto minore è la temperatura influente sul sangue di carbonchio.

zeigt sich übrigens, worauf ich schon früher aufmerksam zu machen Gelegenheit hatte, auch bei den niedrigeren Temperaturgraden, welche von Pasteur benutzt werden; denn wir sahen in unseren Versuchen, daß sich bei 43° C die Abschwächung in 6 Tagen und bei 42° C in ungefähr 30 Tagen vollzieht. Einen weiteren Beleg für die abschwächende Wirkung der Temperatur auf pathogene Bazillen haben Arloing, Thomas und Cornévin geliefert, welche fanden, daß die Sporen der Rauschbrandbazillen (*Charbon symptomatique*), wenn sie 6 Stunden lang auf eine Temperatur von mehr als 85° C erwärmt werden, ebenfalls ihre Virulenz einbüßen und die Eigenschaften eines Vakzins gegen Rauschbrand annehmen. Schließlich ist noch eine Beobachtung von Fitz zu erwähnen: Derselbe unterwarf die Sporen des *Bacillus butyricus* (des Ferments der Butter-säuregärung) dem Einfluß höherer Temperaturen und es zeigte sich dann, daß wenn dieselben 5 Stunden lang auf 90°, oder 7 Stunden lang auf 80° erhitzt wurden, sie noch imstande waren, sich zu vermehren, aber die Fähigkeit, Gärung zu erregen, verloren hatten. Namentlich in den letzten beiden Fällen, in denen hohe Temperaturgrade auf Sporen wirkten, ist der Einfluß des Sauerstoffs als vollständig ausgeschlossen anzusehen und kann nur noch die Wärme als abschwächendes Agens in Betracht kommen.

Es hat aber den Anschein, daß, wie schon angedeutet wurde, außer der Wärme noch andere den Bakterien feindliche Stoffe die Abschwächung bewirken können. Auch in dieser Richtung verdanken wir Toussaint den ersten Anhaltspunkt, indem er zeigte, daß die Virulenz des Milzbrandblutes durch den Zusatz von Karbolsäure abgeschwächt werden kann. Die Karbolsäure -- das Phenol -- gehört bekanntlich zu den Stoffwechselprodukten der Bakterien und es weisen manche Tatsachen, deren Aufzählung mich hier zu weit führen würde, darauf hin, daß in gleicher Weise wie das Phenol auch andere ähnliche, beim Wachstum und bei der Vermehrung der Bakterien entstehende Produkte schwächend und das Wachstum behindernd auf dieselben Bakterien einwirken, deren Lebensprozeß sie ihre Entstehung verdanken. Je langsamer die Abschwächung der Milzbrandbazillen bei geringeren Temperaturgraden vor sich geht und je mehr Zeit ihnen zum Wachstum und zur Vermehrung gelassen wird, um so mehr muß sich die schwächende Wirkung solcher Stoffwechselprodukte neben dem Einfluß der Temperatur geltend machen.

Pasteur hat sich zur Stütze seiner Theorie von dem schwächenden Einfluß des Sauerstoffes darauf berufen, daß die Milzbrandbazillen, wenn sie bei Sauerstoffabschluß auf 42—43° erwärmt werden, ihre Virulenz behalten, während sie dieselbe unter Sauerstoffzufuhr verlieren. Hierbei läßt Pasteur aber außer acht, daß ohne Sauerstoff auch kein Wachstum der Milzbrandbazillen stattfindet, sich also jene Stoffwechselprodukte nicht bilden können und damit ein wesentliches Agens der Abschwächung wegfällt.

Einen schlagenden Beweis gegen die schwächende Wirkung des Sauerstoffes liefert schließlich noch folgende Tatsache. Wenn ein Vakzin in nicht zu langen Zwischenräumen immer wieder in neue Nährflüssigkeiten übertragen wird, dann behält er die ihm eigentümliche Virulenz unverändert bei. Läßt man ihn aber lange Zeit in derselben Nährflüssigkeit, ohne ihn weiter zu züchten, dann sinkt allmählich seine Virulenz immer mehr und kann schließlich vollkommen verlorengehen, vorausgesetzt, daß es nicht inzwischen zur Sporenbildung kam. In beiden Fällen wirkt der Sauerstoff gleichmäßig auf die Bazillen ein, und doch werden in dem einen die Bazillen abgeschwächt und in dem anderen nicht. Ich möchte mir diese Erscheinung vorläufig in der Weise erklären, daß die nicht weitergezüchteten Bazillen, welche beständig im Kontakt mit ihren eigenen Stoffwechselprodukten bleiben, durch die Einwirkung dieser letzteren abgeschwächt werden. Die nach Ablauf von wenigen Tagen immer aufs neue in eine frische Nährlösung übertrage-

Con 52°C l'indebolimento viene raggiunto in 15 minuti, con 50°C in 20 minuti. Lo stesso fenomeno si dimostra tra l'altro, come ebbi modo di far notare già in passato, anche con le basse temperature, utilizzate da Pasteur; poiché vedemmo nei nostri esperimenti che, con 43°C l'indebolimento si compiva in 6 giorni, con 42°C in circa 30 giorni. Un'ulteriore prova sull'effetto indebolente della temperatura sui bacilli patogeni, è stata fornita da Arloing, Thomas e Cornevin, i quali trovarono che, le spore dei bacilli di carbonchio sintomatico, riscaldate per più di 6 ore ad una temperatura superiore a 85°C, perdono a loro volta la loro virulenza e assumono le caratteristiche di un vaccino contro il carbonchio sintomatico. Infine, bisogna citare anche un'osservazione di Fitz: egli sottopose le spore del bacillo butirrico all'influsso di temperature maggiori e risultò che, se le stesse furono riscaldate per 5 ore a 90°C, oppure 7 ore a 80°C, furono ancora in grado di espandersi, ma persero la capacità di provocare fermentazione. Particolarmente negli ultimi due casi, in cui elevati gradi di temperatura agirono sulle spore, l'influsso dell'ossigeno è da osservare come completamente escluso e solamente la temperatura può essere presa in considerazione come agente indebolente.

Sembra però che, come già accennato, oltre al caldo anche altre sostanze nemiche dei batteri possono influenzare l'indebolimento. Anche in questa direzione dobbiamo a Toussaint il primo indizio, col quale dimostrò che, la virulenza del sangue di carbonchio può essere diminuita con l'aggiunta di acido fenolico. L'acido fenolico – il fenolo – appartiene notoriamente ai prodotti per il metabolismo dei batteri e, molte circostanze, la cui elencazione mi porterebbe qui troppo lontano, conducono al fatto che, in maniera uguale al fenolo anche altri prodotti simili, in quanto a crescita e a moltiplicazione dei batteri, influenzano debolmente e ostacolano la crescita degli stessi batteri, il cui processo vitale lo devono alla loro formazione. Quanto più lentamente avviene l'indebolimento dei bacilli di carbonchio con basse temperature e quanto più tempo gli viene lasciato per la crescita e la moltiplicazione, tanto più deve farsi valere l'effetto indebolente di questi prodotti per il metabolismo, accanto all'influsso della temperatura.

Pasteur si è appellato, a sostegno della sua teoria circa il debole influsso dell'ossigeno, al fatto che i bacilli di carbonchio, riscaldati a 42 – 43° con interruzione dell'ossigeno, trattengono la loro virulenza, mentre la vanno a perdere con l'apporto di ossigeno. Pasteur però non prende qui in considerazione che, senza ossigeno non ha luogo nemmeno la crescita dei bacilli di carbonchio, cioè non si formano quei prodotti per il metabolismo e quindi viene soppresso un essenziale agente dell'indebolimento.

Una prova schiacciante contro l'effetto indebolente dell'ossigeno è data dal seguente fatto. Se un vaccino non viene trasposto per un lasso di tempo troppo lungo, di continuo in nuovi liquidi nutritivi, allora mantiene immutata la virulenza caratteristica. Se invece lo si lascia per molto tempo nello stesso liquido nutritivo, senza continuare a coltivarlo, allora la sua virulenza si abbassa sempre di più fino ad andare completamente perduta, presupposto che, nel frattempo non arrivò alla formazione delle spore. In entrambi i casi l'ossigeno agisce nello stesso modo sui bacilli, eppure nell'uno i bacilli vengono indeboliti e nell'altro no. Provvisoriamente, voglio chiarire questa faccenda col fatto che, i bacilli che non sono stati coltivati ulteriormente, e che restano in continuo contatto con i propri prodotti per il metabolismo, vengono indeboliti dall'azione di quest'ultimi.

nen Bazillen werden dagegen fortwährend dem nachteiligen Einfluß der sich bildenden Stoffwechselprodukte früh genug entzogen und bleiben infolgedessen unabgeschwächt, obwohl der Sauerstoff in vollkommen gleicher Weise auf sie einwirken kann wie auf die anderen Bazillen und sich beide auch übrigens unter den gleichen Lebensbedingungen befinden.

So einfach, wie P a s t e u r sich den Vorgang der Abschwächung vorstellt, ist er auf keinen Fall, und man wird, um zu einer befriedigenden Erklärung desselben zu gelangen, sehr verschiedene Momente, die Wärme, chemisch wirkende Agentien, höchstwahrscheinlich auch noch andere bisher unbekannte Bedingungen in Betracht ziehen müssen.

Zum Schluß habe ich noch einige Bemerkungen über die Abschwächung der Krankheitsstoffe im allgemeinen zu machen.

Nach P a s t e u r s Meinung ist die Abschwächung schon bei vier verschiedenen Infektionsstoffen gelungen und es kann mit Rücksicht auf diese Erfolge jetzt schon das Vorhandensein eines allgemein gültigen Gesetzes der Abschwächung und Umwandlung in schützende Impfstoffe angenommen werden, dem sämtliche pathogene Organismen unterworfen sind. Soweit kann man meines Erachtens noch nicht gehen. Bislang ist nur die Abschwächung der Milzbrandbazillen als eine unbestrittene Tatsache anzusehen. Für die übrigen von P a s t e u r hierher gerechneten Infektionsstoffe, nämlich die Mikroben der Hühnercholera, der nouvelle maladie de la rage und des Kaninchen typhus bedarf es noch sorgfältiger Nachprüfungen und Bestätigungen seitens zuverlässiger Beobachter. Dieses Verlangen hat um so mehr Berechtigung, als sich zwei der oben genannten Krankheiten unzweifelhaft als mit der Kaninchensepticämie identisch herausgestellt haben und es nach den Untersuchungen von T o u s s a i n t nicht ausgeschlossen erscheint, daß selbst die Hühnercholera ebenfalls dieselbe Krankheit ist wie die Kaninchensepticämie.

Da man mich irrtümlicherweise vielfach für einen prinzipiellen Gegner der Umzüchtung pathogener Mikroorganismen gehalten hat, so möchte ich bei dieser Gelegenheit an das erinnern, was ich in den Mitteilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte (Seite 74)¹⁾ und in ähnlicher Weise auch bei anderen Gelegenheiten gesagt habe, „daß ich nämlich keineswegs ein Gegner der Lehre von der Umzüchtung einer Art in eine andere nahe verwandte Art bin und demgemäß auch die Abänderung pathogener Organismen in unschädliche und umgekehrt für möglich halte, doch muß bei der außerordentlichen Tragweite einer solchen Tatsache ein exakter Beweis derselben verlangt werden, ehe sie von der Wissenschaft als vollgültig angenommen werden kann.“ Diesen selben Standpunkt nehme ich auch jetzt noch ein und halte nunmehr, nachdem der Beweis für die Umzüchtung der Milzbrandbazillen in exakter Weise gebracht ist, dieselbe für eine feststehende Tatsache, verlange aber für weitere Umzüchtungsversuche ebenso unwiderlegliche Beweise und bin der Meinung, daß man nicht eher von einem Gesetz der Abschwächung pathogener Mikroorganismen reden kann, als bis es gelungen ist, eine größere Zahl derselben umzuzüchten. Doch ist es in betreff der weiteren Bestrebungen auf diesem Gebiet sehr zu wünschen, daß die dasselbe bearbeitenden Forscher in Zukunft mit größerer Objektivität und mit mehr Selbstkritik zu Werke gehen möchten.

Auch ist nach den bisherigen Erfahrungen dringend davor zu warnen, daß die wissenschaftlichen Ergebnisse zu voreilig in die Praxis übertragen werden. Die Hoffnungen, welche Pasteur an die Schutzimpfung der Hühnercholera knüpfte, haben sich

¹⁾ Diese Werke p. 201. D. Herausgeber.

I bacilli che in seguito ad alcuni giorni sono sempre trasposti in una soluzione nutritiva fresca vengono, al contrario, continuamente sottratti abbastanza in fretta all'influsso negativo dei prodotti per il metabolismo in formazione e restano di conseguenza non indeboliti, nonostante l'ossigeno possa influire su di loro in maniera del tutto uguale agli altri bacilli e entrambi si trovino nelle stesse condizioni di vita.

Il processo dell'indebolimento non è affatto così semplice come Pasteur si immagina e, per giungere ad una spiegazione soddisfacente dello stesso, si prenderanno in considerazione diversi momenti, il caldo, gli agenti ad azione chimica e con tutta probabilità anche altre condizioni finora sconosciute.

In conclusione, devo fare ancora alcune osservazioni sull'indebolimento delle sostanze infettive in generale.

Secondo il parere di Pasteur, l'indebolimento è già riuscito con quattro diverse sostanze infettive e, in considerazione di questi successi, può già essere accettata l'esistenza di una regola valida a livello generale sull'indebolimento e la trasformazione in sostanze inoculanti protettive, ai quali sono sottoposti gli organismi patogeni. Secondo il mio parere, non si può andare così lontani. Fino ad ora, solamente l'indebolimento dei bacilli di carbonchio sono da vedersi come un fatto indiscusso. Tutte le altre sostanze infettive aggiunte da Pasteur, come ad esempio i microbi del colera dei polli, della "nouvelle maladie de la rage" e del tifo dei conigli, devono ancora essere sottoposte ad accurati riesami e conferme da parte di osservatori attendibili. Questa richiesta ha maggiormente diritto, in quanto due delle malattie sopra citate si sono manifestate indubbiamente in maniera identica alla setticemia dei conigli e, secondo le analisi di Toussaint, non sembra escluso che lo stesso colera dei polli possa a sua volta essere la stessa malattia della setticemia dei conigli.

Poiché, erroneamente molte volte mi hanno ritenuto il principale nemico della ricoltivazione dei microrganismi patogeni, voglio in questa occasione ricordare quello che dissi nelle comunicazioni dall'ufficio di igiene imperiale (pag. 74)¹⁰ e in maniera simile anche in altre occasioni, e cioè "che non sono in nessun modo un nemico dello studio sulla ricoltivazione di una specie in un'altra simile e, conformemente, ritengo possibile anche la modifica di organismi patogeni in inoffensivi e viceversa però, data l'ampia portata di questa circostanza, deve essere pretesa una prova prima che possa essere pienamente accettata dalla scienza". Questa posizione la assumo tuttora e oramai ritengo che, dopo che è stata esattamente fornita la prova per la ricoltivazione dei bacilli di carbonchio, questa sia una realtà ferma, ma pretendo per ulteriori esperimenti di ricoltivazione altrettante prove inconfutabili e sono del parere che, non si possa parlare di una legge sull'indebolimento dei microrganismi patogeni fino a quando non si riesca a ricoltivare un numero maggiore degli stessi. Comunque, per quanto riguarda gli ulteriori tentativi in questo campo, c'è da augurarsi che, in futuro, gli stessi ricercatori operino con maggiore obiettività e con maggiore autocritica.

In seguito alle esperienze precedenti, c'è anche urgentemente da mettere in guardia sul fatto che, i risultati scientifici vengono messi in pratica con troppa fretta.

¹⁰ Diese Werke p. 201. D. Herausgeber

allem Anschein nach nicht erfüllt, denn es ist nichts davon verlautet, daß von den Geflügelbesitzern die abgeschwächten Mikroben der Hühnercholera verimpft sind. Die Präventivimpfung gegen Milzbrand stellt sich ebenfalls praktisch verwertbar, wenigstens vorläufig, nicht heraus und es hat die Schutzimpfung mit abgeschwächten pathogenen Bakterien bis jetzt eigentliche Erfolge noch nicht aufzuweisen. Wenn also auf dem Kongreß zu Genf P a s t e u r als ein zweiter J e n n e r gefeiert wurde, so geschah dies wohl etwas verfrüht, und man hatte außerdem offenbar im Drange der Begeisterung vergessen, daß J e n n e r s segensreiche Entdeckung nicht Schafen, sondern Menschen zugute gekommen ist.

Sollte es in Zukunft einmal gelingen, die den Menschen unmittelbar angehenden Bakterien, von denen wir bereits die Bazillen der Tuberkulose, der Lepra, des Abdominaltyphus, die Mikrokokken des Erysipelas, die Spirochacten des Recurrens, also eine für Abschwächungsversuche hinreichende Zahl, kennen, abzuschwächen und in schützende Impfstoffe zu verwandeln, dann erst wird die Präventivimpfung mit abgeschwächten Infektionsstoffen in Wahrheit Triumphe feiern können.

A quanto pare le speranze, che Pasteur ripose nella vaccinazione protettiva contro il colera dei polli, non si sono realizzate, poiché non è trapelato nulla sul fatto che i possessori di pollame vaccinassero con i microbi indeboliti del colera dei polli. Anche la vaccinazione preventiva contro il carbonchio non risulta, nemmeno temporaneamente, utilizzabile praticamente, e la vaccinazione di protezione con batteri patogeni indeboliti non ha finora ancora annoverato reali successi. Se quindi, al congresso di Ginevra, Pasteur è stato festeggiato come un secondo Jenner, questo accadde troppo presto e, in preda all'entusiasmo, ci si dimenticò evidentemente che, Jenner ha fatto preziose scoperte a beneficio dell'uomo e non delle pecore.

Se in futuro si dovesse riuscire ad indebolire i batteri che attaccano direttamente l'uomo, tra i quali conosciamo già i bacilli della tubercolosi, della lebbra, del tifo addominale, i micrococchi dell'erisipela, gli spirocheta del *recurrens*, insomma una quantità sufficiente per gli esperimenti sull'indebolimento, e trasformarli in sostanze protettive, solo allora la vaccinazione preventiva con sostanze infettive indebolite potrà realmente festeggiare i suoi trionfi.

Analisi sui batteri. L'eziologia della malattia del carbonchio, fondata sulla storia dell'evoluzione del bacillo Anthracis.

Koch R., Die Aetiologie der Milzbrand-Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* 2:277-310. *Gesammelte Werke* 1, 5-26, 1876.

Untersuchungen über Bacterien.

V.

Die Aetiologie der Milzbrand-Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis.

Von

Dr. Koch,
Kreisphysikus in Wollstein.

Hierzu Tafel XI.

I. *Einleitung.* Seit dem Auffinden der stäbchenförmigen Körper im Blute der an Milzbrand gestorbenen Thiere hat man sich vielfach Mühe gegeben, dieselben als die Ursache für die direkte Uebertragbarkeit dieser Krankheit ebenso wie für das sporadische Auftreten derselben, also als das eigentliche Contagium des Milzbrands nachzuweisen. In neuerer Zeit hatte sich hauptsächlich Davaine mit dieser Aufgabe beschäftigt und gestützt auf zahlreiche Impfversuche mit frischem oder getrocknetem stäbchenhaltigen Blute, mit aller Entschiedenheit dahin ausgesprochen, dass die Stäbchen Bacterien seien und nur beim Vorhandensein dieser Bacterien das Milzbrandblut die Krankheit von Neuem zu erzeugen vermöge. Die ohne nachweisbare direkte Uebertragung entstandenen Milzbranderkrankungen bei Menschen und Thieren führte er auf die Verschleppung der, wie er entdeckt hatte, im getrockneten Zustande lange Zeit lebensfähig bleibenden Bacterien durch Luftströmungen, Insekten und dergl. zurück. Die Verbreitungsweise des Milzbrandes schien hiermit vollständig klar gelegt zu sein.

Dennoch fanden diese von Davaine aufgestellten Sätze von verschiedenen Seiten Widerspruch. Einige Forscher wollten nach Impfung mit bacterienhaltigem Blute tödlichen Milzbrand erzielt

Analisi sui batteri

V.

**L'eziologia della malattia del carbonchio, fondata sulla storia dell'evoluzione del
bacillo *Anthraxis*.**

Di

Dott. Koch,

Fisico del circolo di Wollstein.

Cfr. Tavola XI.

^^^^^^^^^^

I. Introduzione. Sin dalla scoperta dei corpi a bastoncino nel sangue degli animali morti di carbonchio, ci si è impegnati tanto per dimostrare che, questi siano la causa della trasmissione diretta di questa malattia e ugualmente della comparsa sporadica della stessa, di conseguenza, dell'effettivo contagio del carbonchio. Di recente, fu soprattutto Davaine ad occuparsi di questo problema e a basarsi su numerosi tentativi di vaccinazione con sangue fresco o asciutto, contenente bastoncini, pronunciandosi categoricamente sul fatto che, i bastoncini siano batteri e, solamente con la presenza di questi batteri, il sangue del carbonchio sia in grado di generare nuovamente la malattia. Egli attribuì la trasmissione diretta e non comprovabile delle malattie da carbonchio, sviluppatasi negli uomini e negli animali, alla diffusione dei batteri, restanti in vita per lungo tempo in condizione asciutta, tramite correnti d'aria, insetti e simili. Il modo di diffusione del carbonchio parve così chiarito completamente.

Eppure, tutti questi principi formulati da Davaine, sollevarono proteste da diverse parti.

haben, ohne dass sich nachher Bacterien im Blute fanden, und umgekehrt liess sich wieder durch Impfung mit diesem bacterienfreien Blute Milzbrand hervorrufen, bei welchem Bacterien im Blute vorhanden waren. Andere machten darauf aufmerksam, dass der Milzbrand nicht allein von einem Contagium abhängt, welches oberhalb der Erde verbreitet werde, sondern dass diese Krankheit in einem unzweifelhaften Zusammenhange mit Bodenverhältnissen stehe. Wie würde sonst zu erklären sein, dass das endemische Vorkommen des Milzbrandes an feuchten Boden, also namentlich an Flussthäler, Sumpfdistrikte, Umgebungen von Seen gebunden ist; dass ferner die Zahl der Milzbrandfälle in nassen Jahren bedeutender ist und sich hauptsächlich auf die Monate August und September, in welchen die Curve der Bodenwärme ihren Gipfelpunkt erreicht, zusammendrängt, dass in den Milzbranddistricten, sobald die Heerden an bestimmte Weiden und Tränken geführt werden, jedesmal eine grössere Anzahl von Erkrankungen unter den Thieren eintritt.

Diese Verhältnisse sind allerdings durch die Annahme Davaine's nicht zu erklären und das Ungenügende derselben hat zur Folge gehabt, dass von Vielen die Bedeutung der Bacterien für den Milzbrand ganz geleugnet ist.

Da ich einige Male Gelegenheit hatte, Thiere, welche an Milzbrand gefallen waren, zu untersuchen, so benutzte ich diese zu einer Reihe von Versuchen, welche zur Aufklärung der eben angedeuteten dunklen Punkte in der Milzbrandätiologie beitragen sollten. Hierbei kam ich sehr bald zu der Ueberzeugung, dass die Davaine'sche Theorie über die Verbreitungsweise des Milzbrandes nur zum Theil richtig ist.

Es zeigte sich nämlich, dass die Stäbchen des Milzbrandblutes bei Weitem nicht so resistent sind, als Davaine seinen Versuchen entnehmen zu müssen glaubte. Wie ich später nachweisen werde, bewahrt das Blut, welches nur Stäbchen enthält, seine Impffähigkeit im getrockneten Zustande nur wenige Wochen und im feuchten nur einige Tage. Wie sollten also so leicht vergängliche Organismen das oft während des ganzen Winters und im feuchten Boden vielleicht Jahrelang schlummernde Contagium des Milzbrandes bilden? Hier blieb, wenn die Bacterien wirklich die Ursache des Milzbrandes abgeben, nichts anderes übrig als anzunehmen, dass sie durch einen Generationswechsel in einen anderen gegen abwechselndes Eintrocknen und Anfeuchten unempfindlichen Zustand übergehen können, oder, was weit mehr Wahrscheinlichkeit hat und was von Prof. Cohn schon im zweiten Hefte, Band I. dieser Beiträge p. 145, angedeutet wurde,

Alcuni ricercatori sostennero di aver raggiunto il carbonchio letale secondo la vaccinazione con sangue contenente bastoncelli senza che, successivamente, si trovassero batteri nel sangue e, al contrario, si causò, tramite vaccinazione con questo sangue privo di batteri, nuovamente il carbonchio, nel quale furono presenti batteri nel sangue. Altri fecero notare che, il carbonchio non dipenda solamente da un contagio, il quale sarebbe portato al di sopra della terra, bensì che questa malattia stia in un rapporto indubitabile con le condizioni del terreno. Come si spiegherebbe altrimenti che, la comparsa endemica del carbonchio sia legata al terreno umido, quindi soprattutto a letti di fiumi, paludi, dintorni di laghi; che, inoltre, il numero dei casi di carbonchio sia più sostanziale negli anni umidi e che si ammassa soprattutto nei mesi di agosto e settembre, durante i quali la curva del calore del suolo raggiunge la punta massima e che, nelle zone di carbonchio, non appena le greggi vengono condotte in determinati pascoli e abbeveratoi, compare ogni volta un numero maggiore di infezioni tra gli animali.

Queste situazioni non sono tuttavia da spiegare tramite l'ipotesi di Davaine e, tale insufficienza ha avuto come conseguenza che, per molti, il significato dei batteri nel carbonchio sia totalmente negato.

Poiché alcune volte ho avuto l'occasione di visitare animali affetti da carbonchio, li utilizzai per una serie di esperimenti, che avrebbero dovuto contribuire al chiarimento dei punti oscuri menzionati poco fa. Così arrivai ben presto alla convinzione che, la teoria di Davaine sul modo di diffusione del carbonchio, sia solo in parte giusta.

Risultò infatti che, i bastoncelli del sangue di carbonchio a lungo andare non siano così resistenti come Davaine aveva creduto di dedurre dai suoi esperimenti. Come dimostrerò più avanti, il sangue, contenente solo bastoncelli, conserva la sua capacità di vaccinazione in un ambiente asciutto solo per poche settimane e in uno umido solo per pochi giorni. Come potrebbero quindi, questi organismi così facilmente fugaci creare il contagio latente, ripetutamente durante l'intero inverno, e per tutto l'anno nel terreno umido? Qui rimase da supporre che, se i batteri sono veramente la causa del carbonchio, possano trasformarsi, tramite un cambio generazionale, in un altro stato insensibile, contro un'alternanza di prosciugamenti e umidificazioni oppure, cosa molto più probabile e già accennata da Prof. Cohn nel secondo quaderno, Vol. I di questi allegati, p. 145, che i batteri formino spore, aventi la capacità di assumere nuovamente la dimensione di batteri, dopo uno stato di calma più o meno lungo.

dass die Bacterien Sporen bilden, welche die Fähigkeit besitzen, nach längerem oder kürzerem Ruhezustande von Neuem zu Bacterien auszuwachsen.

Alle meine weiteren Versuche gingen nun dahin, diesen vermuteten Entwicklungszustand der Milzbrandbacterien aufzufinden. Nach manchen vergeblichen Bemühungen gelang es denn auch schliesslich dieses Ziel zu erreichen und damit die wahre Milzbrandätiologie in ihren Grundzügen festzustellen.

Da die Entwicklungsgeschichte der Milzbrandbacterien nicht nur botanisches Interesse bietet, sondern auch manches Licht auf die bis jetzt so dunkle Aetiologie der vom Boden abhängigen Infectionskrankheiten zu werfen im Stande ist, so habe ich es jetzt schon, obwohl meine Versuche noch nicht abgeschlossen sind, unternommen, die wichtigsten Resultate derselben zu veröffentlichen.

II. *Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis.* Die Milzbrandbacterien gehören nach Prof. F. Cohn's System der *Schizophyten*¹⁾ zur Gattung *Bacillus* und sind mit dem speciellen Namen *Bacillus Anthracis* belegt, dessen ich mich im Folgenden statt des viel umfassenden Ausdrucks Bacterien bedienen werde.

1. Im Blute und in den Gewebssäften des lebenden Thieres vermehren sich die Bacillen ausserordentlich schnell in derselben Weise, wie es bei verschiedenen andern Arten Bacterien beobachtet ist, nämlich durch Verlängerung und fortwährende Quertheilung.

Es ist mir allerdings nicht gelungen, diesen Vorgang direct zu sehen; derselbe lässt sich aber aus den schon häufig vorgenommenen und von mir in folgender Weise wiederholten Impfversuchen schliessen. Als sehr bequemes und leicht zu habendes Impfobjekt benutzte ich meistens Mäuse. Anfangs impfte ich dieselben an den Ohren oder in der Mitte des Schwanzes, fand aber diese Methode unsicher, da die Thiere durch Reiben und Lecken das Impfmaterial entfernen können; später wählte ich als Impfstelle den Rücken der Schwanzwurzel, wo die Haut schon verschiebbar und mit langen Haaren bedeckt ist. Die in einem verdeckten grossen Glase sitzende Maus wird zu diesem Zwecke mit einer langen Pincette am Schwanz gefasst und letzterer aus einer schmalen Spalte zwischen Deckel und Glasrand so weit hervorgezogen, dass bequem ein flacher querverlaufender Einschnitt in die Haut des Schwanzwurzelrückens gemacht und ein möglichst kleines Tröpfchen der bacillenhaltigen Flüssigkeit

¹⁾ Band I, Heft 3 dieser Beiträge p. 202.

Tutti i miei tentativi successivi andarono dunque verso il ritrovamento di questo presunto stato di sviluppo dei batteri del carbonchio. Dopo molti inutili sforzi, si riuscì poi infine anche a raggiungere questo obiettivo e, in tal modo, a fissare la vera eziologia del carbonchio nei suoi tratti fondamentali.

Poiché la storia dello sviluppo dei batteri del carbonchio non rappresenta solo un interesse botanico, ma è in grado di gettare un po' di luce sull'eziologia, fino ad ora tanto oscura, delle malattie infettive legate al terreno, così ora ho già intrapreso, nonostante i miei esperimenti non siano ancora terminati, la pubblicazione dei più importanti.

II. Storia dello sviluppo del bacillo *Anthraxis*. I batteri del carbonchio appartengono, secondo il sistema di Prof. Cohn, agli *Schizofiti*¹, del genere *Bacillus* e sono documentati col nome speciale *Bacillo Anthracis*, del quale mi servirò qui al posto dell'espressione più vasta di batteri.

1. Nel sangue e nei liquidi dei tessuti dell'animale vivente i bacilli si moltiplicano molto velocemente, allo stesso modo in cui è stato osservato per tanti altri tipi di batteri, e cioè tramite prolungamento e scissione trasversale continua.

Non mi è tuttavia riuscito di vedere direttamente questo processo; lo stesso si desume però dai frequenti tentativi di vaccinazione effettuati e da me ripetuti nel seguente modo. Come oggetto del vaccino utilizzai topi, molto pratici e facili da avere. All'inizio li vaccinai alle orecchie o al centro della coda, ma trovai questo metodo insicuro poiché, tramite lo strofinarsi e il leccarsi, gli animali possono togliersi il materiale vaccinante; in seguito scelsi, come punto per la vaccinazione, la schiena, alla radice della coda, dove la pelle è ricoperta da lunghi peli. Il topo, posizionato all'interno di un grosso bicchiere coperto, viene a tal fine preso alla coda con una pinzetta e avvicinato ad una fessura, situata tra il coperchio e il bordo del bicchiere, in modo che si possa incidere comodamente un piccolo taglio trasversale nella pelle alla base della coda e mettere nella ferita un goccia, possibilmente piccola, del liquido contenente i bacilli.

¹ Vol. I, rivista 3 di questi allegati, p. 202.

in die kleine Wunde gebracht werden kann. In dieser Weise ausgeführte Impfungen, welche ich in grosser Zahl gemacht habe, hatten ausnahmslos ein positives Resultat, sobald ganz frische Milzbrand-Substanzen angewandt wurden; und ich glaube deswegen eine derartige Impfung, je nach ihrem Erfolg, als ein sicheres Reagens auf das Leben oder Abgestorbensein der Bacillen ansehen zu können: eine Ansicht, welche durch andere, später zu erwähnende Versuche als richtig erwiesen wird.

Theils nun, um immer mit frischem Material versehen zu sein, theils aber auch um zu prüfen, ob nicht nach einer bestimmten Zahl von Generationen die Bacillen in eine andere Form übergehen, wurden mehrere Male Mäuse in aufeinanderfolgender Reihe geimpft, so dass ohne Unterbrechung die folgende Maus immer mit der Milzsubstanz der kurz vorher an Milzbrand gestorbenen inficirt wurde. Die längste dieser Reihen betrug zwanzig Mäuse, so dass also eben so viele Bacillengenerationen vorlagen; aber bei sämtlichen Thieren ergab sich derselbe Befund; immer war die Milz erheblich geschwollen und mit zahllosen Mengen von glashellen Stäbchen gefüllt, welche geringe Grössendifferenzen hatten, unbeweglich waren und keine Sporenbildung oder dergleichen zeigten. Dieselben Bacillen fanden sich auch, aber bei weitem nicht so zahlreich als in der Milz, im Blute. Bei diesem Versuche hatten sich also durch viele Generationen aus wenigen Bacillen immer wieder bedeutende Massen ebenso gestalteter Individuen derselben Art entwickelt und da man unter diesen neu entstandenen Bacillen viele mit einer beginnenden Quertheilung in ihrer Mitte, manche an dieser Stelle geknickte und noch andere unter einem Winkel lose zusammenhängende erblickt, so lässt sich wohl eine andere Weise ihrer Vermehrung als durch Verlängerung und Quertheilung, nachdem sie ungefähr die doppelte Länge erreicht haben, kaum annehmen. Es dürfte aber auch nach diesem Resultat schwerlich zu erwarten sein, dass durch noch längere Reihen von Impfungen eine Formveränderung der Bacillen erreicht werden, oder dass man schliesslich auf einen Generationswechsel derselben treffen könnte. Auch in dem der Impfstelle benachbarten serös infiltrirten Unterhautzellgewebe und in den nächsten Lymphdrüsen fand ich bei Kaninchen und Meerschweinchen nur kurze und in der Theilung begriffene Stäbchen.

Die Vertheilung der Bacillen im Körper der geimpften Thiere ist nicht immer gleichmässig. Bei Meerschweinchen enthielt das Blut ausserordentlich viele Bacillen, so dass ihre Zahl oft derjenigen der rothen Blutkörper gleichkam oder sie selbst übertraf; im Blute

Le vaccinazioni praticate in questo modo, eseguite da me in grande quantità, hanno avuto, senza eccezione, un buon risultato non appena sono state applicate sostanze di carbonchio del tutto fresche; e credo perciò, di poter ritenere che, una simile vaccinazione, in base al suo successo, sia un reagente sicuro alla vita o alla morte dei bacilli: una visione giustamente confermata in seguito da altre prove.

In parte per avere sempre a disposizione del materiale nuovo, in parte per esaminare che, dopo un certo numero di generazioni, i bacilli non si trasformino in un'altra forma, i topi furono vaccinati più volte in serie consecutiva, in modo che il topo successivo venisse infettato, senza interruzione, con la sostanza della milza del topo morto precedentemente di carbonchio. La serie più lunga di questo genere interessò venti topi, in modo che si presentassero appunto altrettante generazioni di bacilli; ma in tutti gli animali si ebbe lo stesso risultato; ogni volta che la milza risultò ingrossata e riempita con innumerevoli bastoncelli, chiari come il vetro e con una minima differenza di grandezza, furono immobili e non mostrarono nessuna formazione di spore o simili. Gli stessi bacilli si trovarono anche nel sangue, anche se, molto meno rispetto alla milza. Con questa prova si svilupparono, attraverso molte generazioni, da pochi bacilli sempre più consistenti masse di altrettanti individui della stessa specie e, poiché tra questi bacilli di nuova formazione se ne osservano molti con una scissione trasversale al centro, così non si può presumere nessun altro modo per la loro proliferazione, che il prolungamento e la scissione trasversale, dopo che hanno raggiunto all'incirca il doppio della lunghezza. Ma, anche dopo questo risultato, dovrebbe essere difficile aspettarsi che, attraverso serie di vaccinazioni ancora più lunghe, si possa raggiungere un cambiamento della forma dei bacilli oppure, che ci imbatta in un cambio generazionale degli stessi. Nei conigli e nei porcellini d'india, trovai anche nel tessuto cellulare sottocutaneo, vicino al punto della vaccinazione, e nelle successive ghiandole linfatiche solo dei bastoncelli corti e situati nel bel mezzo della scissione.

der Kaninchen sind sie erheblich weniger zahlreich, oft so selten, dass man mehrere Gesichtsfelder durchmustern muss, ehe man einige findet; bei Mäusen enthält das Blut stets eine so geringe Zahl Bacillen, dass sie manchmal zu fehlen scheinen¹⁾. Dafür findet man bei Kaninchen die Bacillen um so reichlicher und sicherer in den Lymphdrüsen und in der Milz, und bei Mäusen in erstaunlicher Menge in der Milz. Einigemal habe ich die Marksubstanz der Tibia von Mäusen untersucht, aber nur vereinzelte Bacillen darin gefunden.

Auf weitere hierher gehörige Details über die Lagerung der Bacillen im Gewebe der Milz, in den Blutgefäßen, über ihre Anhäufungen in den Capillaren und kleinen Venen und die dadurch bedingten lokalen Oedeme, Gefäßzerreißungen und Blutaustritte vermag ich wegen des rein pathologischen Interesses dieser Verhältnisse hier nicht weiter einzugehen.

Ebenso würde es zu weit führen, die Frage nach der eigentlichen Todesursache der an Milzbrand sterbenden Thiere zu erörtern, ob dieselben durch die bei dem intensiven Wachsthum der Bacillen im Blute entwickelte Kohlensäure oder, was wohl wahrscheinlicher ist, durch giftig wirkende Spaltprodukte der von den Parasiten zu ihrer Ernährung verbrauchten Eiweisskörper getödtet werden.

2. Im Blute des todtten Thieres oder in geeigneten andern Nährflüssigkeiten wachsen die Bacillen innerhalb gewisser Temperaturgrenzen und bei Luftzutritt zu ausserordentlich langen, unverzweigten *Leptothrix*-ähnlichen Fäden aus, unter Bildung zahlreicher Sporen.

Am einfachsten überzeugt man sich von der Richtigkeit dieses Satzes durch folgendes Experiment:

Auf den Objectträger wird ein Tropfen von möglichst frischem Rinderblutserum oder *Humor aqueus* von Rinderaugen gebracht, in diesen ein kleines Stückchen frische bacillenhaltige Milzsubstanz eingetragen und das Deckgläschen so darauf gelegt, dass die Bacillennasse ungefähr in die Mitte des Präparats zu liegen kommt. Hierauf wird der Objectträger, um die Verdunstung der Flüssigkeit zu verhüten, sofort in einen feuchten Raum gebracht und mit diesem in den Brütkasten gestellt²⁾.

¹⁾ Derartige Fälle haben wahrscheinlich, wenn nur das Blut der mit Milzbrand geimpften Thiere untersucht wurde, zur früher erwähnten Ansicht geführt, dass Milzbrand, ohne dass Bacillen im Blute sich finden, vorkomme und dass man durch Impfung mit bacillenfremem Blute wieder Milzbrand erzeugen könne.

²⁾ Als feuchten Raum benutzte ich flache mit nassem Sand gefüllte Teller; auf dem Sand lag eine Schicht Filtrirpapier und auf diesem die Präparate.

La distribuzione dei bacilli nel corpo degli animali vaccinati non sempre è uniforme. Nei porcellini d'india, il sangue conteneva numerosi bacilli, al punto che il loro numero eguagliò, oppure superò, spesso quello dei corpi sanguigni rossi; nel sangue dei conigli sono decisamente meno numerosi, spesso talmente rari che, bisogna esaminare più campi visivi prima di riuscire a trovarne qualcuno; nei topi, il sangue contiene una quantità così bassa di bacilli da sembrare, a volte, assenti². Per contro, nei conigli i bacilli si trovano maggiormente e in maniera più sicura nelle ghiandole linfatiche e nella milza, e nei topi, in quantità sorprendente, nella milza. Alcune volte ho esaminato la sostanza del midollo della tibia dei topi, ma vi trovai solo bacilli isolati.

Non posso ora addentrarmi negli ulteriori dettagli sulla presenza dei bacilli nel tessuto della milza, nei vasi sanguigni, sul loro accumulo nei capillari e nelle piccole vene e i conseguenti edemi locali, i tagli ai vasi e le fuoriuscite di sangue, visto l'interesse puramente patologico di queste circostanze.

Allo stesso modo porterebbe troppo lontano, dirigere la domanda alla causa che, in fin dei conti, provoca la morte degli animali affetti da carbonchio, se questi vengono uccisi dall'acido carbonico sviluppatosi nel sangue dall'intensiva crescita dei bacilli o se, cosa molto più probabile, da prodotti di scissione ad effetto velenoso dei corpi proteici, utilizzati dai parassiti per la loro nutrizione.

2. Nel sangue dell'animale morto oppure in altri liquidi nutrienti i bacilli, all'interno di determinati limiti di temperatura e con accesso dell'aria, assumono dimensioni simili a fili di *Leptothrix*, estremamente lunghi, sotto formazione di numerose spore.

Il modo più semplice per convincersi dell'esattezza di questo principio è attraverso il seguente esperimento:

Sul vetrino portaoggetti viene messa una goccia di siero di sangue di manzo possibilmente fresco oppure di *Humor aqueus* degli occhi dei bovini, nel quale viene introdotto un piccolo pezzo di sostanza di milza fresca contenente bacilli e il tutto ricoperto con il vetrino di copertura in modo che, la massa di bacilli si posizioni all'incirca al centro del preparato. Dopodiché, il vetrino portaoggetti viene portato immediatamente in un ambiente umido, onde evitare l'evaporazione del liquido, e messo in un'incubatrice³.

² Casi simili, quando si esaminò solo il sangue degli animali affetti da carbonchio, hanno probabilmente portato alla visione precedentemente menzionata che, il carbonchio, si possa presentare anche senza che compaiano bacilli nel sangue e che, attraverso la vaccinazione con sangue privo di bacilli, si possa riprodurre il carbonchio.

³ Come ambiente umido utilizzai dei piatti piani, riempiti con della sabbia umida; sulla sabbia ci fu uno strato di carta filtrante e al di sopra i preparati. Il piatto fu ricoperto con una piastra di vetro. Se lo strato di sabbia è talmente alto da far risultare lo spazio tra la superficie dei preparati e la parte inferiore della piastra di vetro da ½ a 1 cm, allora i preparati rimangono abbastanza umidi. L'incubatrice da me applicata, che riusciva ad accogliere sei piatti con preparati posizionati uno sopra l'altro, venne riscaldata, in mancanza di gas, da una lampada a petrolio dotata di cilindri. A tutti coloro che vogliono intraprendere questo tipo di esperimento con l'incubatrice, senza gas o senza regolatore, non posso consigliare abbastanza questo metodo di riscaldamento. Poiché, con una piccola fiamma si può riscaldare a sufficienza un apparecchio grande così, in presenza di una riserva di petrolio abbastanza grande, è necessario che la lampada venga riempita giornalmente e l'altezza della fiamma venga portata alla temperatura desiderata, per avere, senza particolare impegno o attenzione, una temperatura progressivamente oscillante di appena 1-2°.

Der Wassergehalt der Luft in dem feuchten Raum muss so regulirt werden, dass die Flüssigkeit nicht unter dem Deckglase hervordringt und dass das Serum am Rande des Deckglases nicht eintrocknet. Im ersteren Falle werden die Bacillen unter dem Deckgläschen weggeschwemmt und entgehen der Beobachtung, im letzteren wird durch die trockne Randschicht des Serums die Luft von den Bacillen abgesperrt und jede weitere Entwicklung derselben damit verhindert.

Die so zubereiteten Präparate bleiben 15—20 Stunden im Brütapparat bei einer Temperatur von 35—37°. Bei einer alsdann vorgenommenen Untersuchung finden sich in der Mitte des Präparats (Taf. XI. Fig. 1) zwischen den noch gut erhaltenen Zellen der Milzpulpa und den Blutkörperchen (a, b) noch viele unveränderte Bacillen, jedoch in geringerer Zahl als im frischem Präparate. Sobald man aber die Mitte des Präparates verlässt, trifft man auf Bacillen, welche um das 3—8fache verlängert sind und dabei einige leichte Knickungen und Krümmungen zeigen (Fig. 2). Je näher man nun dem Rande des Deckglases kommt, um so längere Fäden findet man, welche vielfach gewunden sind und schliesslich die hundert- und mehrfache Länge der ursprünglichen Bacillen erreichen (Fig. 3). Viele dieser langen Fäden haben ihre gleichmässige Struktur und ihr glashelles Aussehen verloren, ihr Inhalt ist fein granulirt und stellenweis treten in demselben kleine stärker lichtbrechende Körnchen in regelmässigen Abständen auf (Fig. 3a). In den dicht am Rande befindlichen Fäden, welche also in Bezug auf den Gasaustausch in der Nährflüssigkeit am günstigsten liegen, ist die Entwicklung am weitesten vorgeschritten; sie enthalten vollständig ausgebildete Sporen, welche in der Gestalt von etwas länglich runden,

Der Teller wurde mit einer Glasplatte bedeckt. Wenn die Sandschicht so hoch ist, dass der Abstand zwischen der Oberfläche der Präparate und der unteren Seite der Glasplatte $\frac{1}{2}$ bis 1 Ctm. beträgt, dann bleiben die Präparate genügend feucht. Der von mir angewandte Brütapparat, welcher sechs auf einander gestellte Teller mit Präparaten aufnehmen konnte, wurde in Ermangelung von Gas durch eine mit Cylinder versehene Petroleumlampe erwärmt. Allen, welche ohne Gas oder ohne Regulator derartige Versuche mit dem Brütapparat unternehmen wollen, kann ich diese Methode der Heizung nicht genug empfehlen. Da man mit einer kleinen Flamme einen grossen Apparat genügend erwärmen kann, so ist bei einem einigermaßen grossen Petroleumreservoir der Lampe nur nöthig, dieselbe ungefähr täglich einmal zu füllen und die Höhe der Flamme für die gewünschte Temperatur richtig auszuprobieren, um ohne besondere Mühe oder Aufsicht fortwährend eine kaum um 1—2° schwankende Temperatur zu haben.

Il contenuto dell'acqua, nell'aria dell'ambiente umido, deve essere così regolato, in modo che il liquido non fuoriesca da sotto il vetrino di copertura e che il siero, al bordo del vetrino di copertura, non si asciughi. Nel primo caso, i bacilli vengono portati via da sotto il vetrino di copertura e sfuggono all'osservazione, nell'ultimo, tramite lo strato del indurito del bordo del siero, viene bloccata l'aria ai batteri e, ogni loro ulteriore sviluppo, viene impedito. I preparati così composti restano 15-20 ore nell'incubatrice ad una temperatura di 35-37°. Durante un'analisi allora effettuata, al centro del preparato, tra le celle della polpa della milza ancora in buono stato di conservazione e il piccolo globulo (a, b) si trovano (tav. XI. fig. 1) ancora molti bacilli, tuttavia in numero inferiore rispetto al preparato fresco. Non appena ci si allontana dal centro del preparato, si incontrano bacilli allungati da 3 a 8 volte, che presentano quindi alcune pieghe e curvature (fig. 2). Più ci si avvicina al bordo del vetrino di copertura, maggiormente lunghi sono i fili che si incontrano, i quali sono spesso tortuosi e raggiungono infine ripetutamente la lunghezza originaria dei bacilli (fig. 3). Molti di questi fili hanno perso al loro struttura omogenea e il loro aspetto limpido, il loro contenuto è leggermente granulato e a tratti compaiono piccoli granuli fortemente rifrangenti, ad intervalli regolari (fig. 3a). Nei fili posizionati molto vicino al bordo, che in relazione allo scambio di gas stanno nella posizione maggiormente favorevole all'interno del liquido nutritivo, lo sviluppo è in assoluto più evoluto; essi contengono spore completamente sviluppate, incorporate in brevi intervalli regolari della sostanza dei fili, e dall'aspetto di corpi rifrangenti un po' lunghi e arrotondati (fig. 4a).

stark lichtbrechenden Körpern in ganz regelmässigen kurzen Abständen der Substanz der Fäden eingelagert sind (Fig. 4a). In dieser Form gewähren die Fäden, namentlich wenn sie in vielfach verschlungenen und um einander gewundenen Linien gruppirt sind, einen überraschenden Anblick, der sich am besten mit demjenigen höchst zierlicher, künstlich angeordneter Perlschnüre vergleichen lässt.

Manche Fäden sind auch schon in der Auflösung begriffen und ihre frühere Gestalt nur noch durch die reihenförmige Lagerung der von einer schleimigen Bindesubstanz zusammen gehaltenen Sporen angedeutet. Dazwischen liegen dann bisweilen einzelne freie und kleine Häufchen zusammen geballter Sporen (Fig. 4b). In einem einzigen solchen gut gelungenen Präparate sind also alle Uebergänge von dem kurzen Bacillusstäbchen bis zu langen sporenhaltigen Fäden und freien Sporen vertreten und es könnte damit schon der Beweis dafür gebracht sein, dass letztere aus ersteren hervorgegangen sind. Trotzdem ich anfangs diesen Versuch mehrfach wiederholte und immer wieder zu demselben Resultate kam, stiegen mir doch verschiedene Bedenken gegen die Richtigkeit dieser Annahme auf. Wie kamen die Bacillen, an denen ich bis dahin keine selbständige Bewegung wahrgenommen hatte, an den Rand des Präparates, während die Blutkörperchen in der Mitte liegen blieben? Konnten die langen sporenhaltigen Fäden nicht möglicherweise am Rande der Flüssigkeit durch aus der Luft dahin gelangte Keime entstanden sein? Denn gegen eine derartige Verunreinigung aus der Luft waren die Präparate nicht geschützt und in der That wucherten neben den Fäden auf diesem Wege oft die schönsten Colonien von *Micrococcus* und *Bacterium* in das Präparat hinein; einigemal erschien auch eine der unsrigen ähnliche Bacillusart. Hier kam also Alles darauf an, vollständige Sicherheit zu erlangen und nicht in einen Fehler zu verfallen, welcher leider schon so oft bei Culturversuchen mit den niedersten Organismen von erfahrenen Forschern begangen ist und durch welchen die Untersuchungen auf diesem Gebiete in neuerer Zeit etwas in Misscredit gekommen sind. Ich meine den Fehler, ähnliche Formen, welche in derselben Nährflüssigkeit zu gleicher Zeit oder kurz nacheinander entstanden und zugleich mit scheinbaren Uebergangsformen vermischt sind, ohne Weiteres als verschiedene Entwicklungsstadien desselben Organismus zu erklären.

Da mir die Bedingungen für die Entwicklung des *Bacillus Anthracis* bekannt waren, nämlich die Nährflüssigkeit, die Temperatur bei welcher er wächst und die Nothwendigkeit der Luftzufuhr, so versuchte ich auf dem Mikroskopisch diese Erfordernisse herzu-

Con questa forma i fili, soprattutto se sono raggruppati in molteplici linee incrociate e intrecciate su sé stesse, acquistano un aspetto sorprendente, paragonabile a quello, molto grazioso e disposto artisticamente, a filo di perle. Alcuni fili sono compresi anche già nello scioglimento e la loro forma originaria è accennata solamente dalla conservazione, in fila, delle spore, tenute insieme da una sostanza collante viscida. In mezzo si trovano piccoli mucchietti singoli di spore ammassate (fig. 4b). In un unico di questi preparati ben riusciti sono rappresentati tutti i passaggi a partire dal bastoncino corto di bacilli fino al lungo filo contenente spore e alle spore libere e, si potrebbe quindi dimostrare che, le ultime nascono dalle prime. Nonostante agli inizi ripetessi più volte questo esperimento e giungessi sempre allo stesso risultato, mi vennero parecchi dubbi sull'esattezza di questa supposizione. In quale modo i bacilli arrivarono al bordo dei preparati, non avendo riscontrato fino ad allora alcun movimento autonomo, mentre i globuli rimasero fermi al centro? I lunghi fili contenenti le spore non potevano forse risultare da germi capitati al bordo del liquido e portati lì dall'aria? Poiché, da una simile contaminazione da parte dell'aria, i preparati non furono protetti e, in realtà, accanto ai fili, su questa via proliferarono spesso le più belle colonie di micrococchi e batteri fin dentro ai preparati; alcune volte comparve anche una tipologia di bacilli simile alla nostra. In questo caso, ciò che importava in assoluto, fu di raggiungere la totale sicurezza senza cadere in un errore che, purtroppo, si è già presentato spesse volte negli esperimenti sulle colture con i più piccoli organismi, da parte di ricercatori esperti e, attraverso i quali, negli ultimi anni gli esperimenti in questo campo sono caduti in discredito. Intendo l'errore di spiegare le forme simili, che si formano nello stesso liquido nutritivo contemporaneamente o a poca distanza l'una dall'altra e al tempo stesso sono mischiate con evidenti forme di passaggio, come diversi stadi formativi degli stessi organismi.

Poiché mi furono chiari i presupposti per lo sviluppo del *Bacillus Anthracis*, cioè il liquido nutritivo, la temperatura con la quale cresce e la necessità dell'afflusso dell'aria, così provai a realizzare queste condizioni al microscopio, in modo da poter osservare direttamente il cambiamento dei bacilli.

stellen, um so direkt die Veränderung der Bacillen beobachten zu können.

So schwierig ich mir anfangs die Ausführung dieses Versuches vorgestellt hatte, so einfach gestaltete er sich in der Wirklichkeit. Nach manchem missglücktem Experiment fand ich folgende Methode als die zweckmässigste:

Als Wärmequelle diente ein M. Schulze'scher heizbarer Objectisch, welchen ich, ebenso wie früher vom Brütapparat angegeben ist, mit einer Petroleumlampe erwärmte. Das Mikroskop muss allerdings auf einen Untersatz gestellt werden, um die Lampe, welche mit einem flachen, aus Blech gearbeiteten Petroleumreservoir versehen ist, mit ihrem Cylinder unter den Arm des heizbaren Objectisches zu bringen. Eine einzige kleine Flamme, ungefähr unter der Mitte des einen Arms stehend, genügte bei meinem Apparat, um tagelang den Objectisch auf der erforderlichen Temperatur zu erhalten. Der feuchte, lufthaltige Raum wurde von einem durch das Deckglas geschlossenen hohlgeschliffenen Objectträger ersetzt (Fig. 6). Das den Bacillen hierdurch für ihre Entwicklung gewährte Luftquantum ist sehr gering, aber wie die Erfahrung lehrt, genügt es zum Gelingen des Versuches. Um nun die richtige Temperatur für die von mir angewandte Sorte von hohlgeschliffenen Objectträgern zu finden, benutzte ich den Schmelzpunkt von Rindertalg, welcher im Wasserbade auf ziemlich genau 40° bestimmt war. Von diesem vorher geprüften Rindertalg wurde ein Tröpfchen auf ein Deckglas gebracht und dieses durch eine rings um die Höhlung des Objectträgers gepinselnte Schicht Provenceröl luftdicht, und zwar mit dem Talgtröpfchen nach unten gerichtet, auf den Hohlraum des Objectträgers aufgesetzt. Es ergab sich dabei, dass der Objectisch auf 45° erwärmt werden musste, um den Tropfen unter dem Deckglase eben zum Schmelzen zu bringen. Für die zu meinen Versuchen erforderliche Temperatur genügte es also, den Objectisch so zu heizen, dass sein Thermometer dauernd auf 40° zeigte. Zu gleicher Zeit musste es auffallen, dass eine Annäherung des Tubus, wie sie zur Einstellung eines Objectes für Hartnack Obj. 7 Ocul. 3, welche ich bei diesen Untersuchungen benutzte, erforderlich ist, jedesmal stark abkühlend wirkte und die Temperatur in dem Tropfen um 5 bis 8° herabsetzte. Nach diesen Ermittlungen brachte ich auf die untere Seite des Deckglases einen Tropfen frisches Rinderblutserum oder, was sich für diesen Versuch noch viel besser bewährte, einen Tropfen ganz frischen und möglichst reinen *Humor aqueus* von Rinderäugen. Der Tropfen darf natürlich nur so dick sein, dass

Quanto più difficile mi immaginai inizialmente questo esperimento, tanto più semplice mi si presentò in realtà. Dopo alcuni esperimenti sfortunati trovai, il seguente metodo, quello più appropriato:

Come fonte di calore servì un tavolo immobile riscaldabile di M. Schulze, che riscaldai, proprio come ho reso noto prima per l'incubatrice, con una lampada a petrolio. Il microscopio deve essere messo tuttavia sopra un supporto, in modo da mettere la lampada, la quale è dotata di un serbatoio di lamiera piatto per petrolio, con il suo cilindro sotto il braccio del tavolo immobile riscaldabile. Un'unica piccola fiamma, posizionata sotto il centro del braccio, fu sufficiente nel mio apparecchio per mantenere il tavolo immobile alla giusta temperatura per giorni interi. L'ambiente umido e aerato venne sostituito con un porta oggetti chiuso dal vetrino di copertura e molato in modo cavo (fig. 6). La quantità di aria concessa in questo modo ai batteri per il loro sviluppo è molto esigua ma, come insegna l'esperienza, è sufficiente per la riuscita dell'esperimento. Ora, per trovare la giusta temperatura per il tipo di porta oggetti da me applicato, utilizzai il punto di fusione del sebo di bovini che, a bagno, fu fissato abbastanza precisamente a 40°. Da questo sebo bovino, preventivamente testato, fu portata una gocciolina su di un vetrino di copertura e questo, tramite uno strato di olio provenzale spennellato tutto attorno alla cavità del porta oggetti, fu messo ermeticamente, e cioè con la gocciolina di sebo orientata verso il basso, sull'ambiente cavo del porta oggetti. Ne risultò che il tavolo immobile dovesse essere riscaldato a 45°, in modo da portare le gocce sotto il vetrino di copertura alla fusione. Per raggiungere la temperatura richiesta dai miei esperimenti fu quindi sufficiente riscaldare il tavolo immobile, così che il suo termometro segnasse costantemente 40°. Allo stesso modo deve colpire che una convergenza del *TUBUS*, necessaria per la regolazione di un oggetto secondo Hartnack (Ogg. 7, Ocul. 3), che io utilizzai durante questi esperimenti, ebbe ogni volta un effetto raffreddante e che abbassò la temperatura nelle gocce da 5 a 8°. In seguito a queste scoperte, portai sulla parte inferiore del vetrino di copertura una goccia di siero di sangue bovino oppure, cosa che si dimostrò molto più efficace per questo tentativo, una goccia di *Humor aqueus* di occhi bovini, totalmente fresco e possibilmente puro. Naturalmente, la goccia deve essere spessa il tanto necessario affinché tutti i suoi strati possano essere esaminati attraverso il microscopio⁴.

⁴ Tra diversi tipi di tavoli immobili molati in modo concavo, trovai più comodo uno, spesso 3 mm e, detto tra parentesi, lungo 60 mm e largo 20 mm. Il suo strato superiore è ben levigato; lo spazio concavo ha la forma di un segmento sferico, un diametro di 14 mm e una profondità di 1,5 mm. I vetrini di copertura di Hartnack, 18 mm quadrati e spessi 0,15 mm, si lasciano fissare molto bene ermeticamente su questi porta oggetti tramite l'olio. Diedi alla goccia della parte inferiore un diametro di circa 5-7 mm, in modo che, tutto attorno, restasse lontana dall'olio almeno altri 3-5 mm, e che quest'ultimo non la potesse facilmente raggiungere, nonostante scorresse sotto il vetrino di copertura verso l'interno. Per esperimenti di coltura, nell'incubatrice ho trovato molto pratico il porta oggetti con un anello di paraffina fissato al di sopra; ci si può costruire tale porta oggetti con molta facilità in tutte le possibili grandezze e forme, e utilizzarlo nello stesso modo come i porta oggetti molati in modo concavo.

man noch alle seine Schichten mit dem Mikroskop durchmustern kann¹⁾. Hierauf wurde in den Rand des Tropfens eine möglichst geringe Menge ganz frischer bacillenhaltiger Milzsubstanz eingetragen und das Deckgläschen sofort auf den mit Oel bestrichenen Objectträger gelegt. Der kleine Hohlraum füllt sich schnell mit Wasserdampf und die anfängliche Verdunstung des Tropfens ist so gering, dass nur am äussersten Rand einige Bacillen vertrocknen; später behält der Tropfen tagelang unverändert seine Gestalt. Das so hergerichtete Präparat wurde nun auf den geheizten Objecttisch gebracht und nachdem die Strömungen in der sich erwärmenden Flüssigkeit sich gelegt hatten, einige mehr nach dem Innern des Tropfens gelegene Bacillen fixirt, rasch noch ihre Form und Lage gezeichnet und dann der Tubus hinaufgeschoben, um eine ungleichmässige und zu lange Abkühlung des Präparates zu vermeiden. Bei der nun folgenden alle 10 bis 20 Minuten vorgenommenen Untersuchung wurde wahrgenommen, dass die Bacillen anfangs etwas dicker werden und anscheinend aufquellen, sich aber in den ersten beiden Stunden kaum merklich ändern. Dann aber beginnt ihr Wachsthum. Schon nach 3 bis 4 Stunden haben sie die 10—20fache Länge erreicht, sie fangen sich an zu krümmen, gegenseitig zu verdrängen oder geflechtartig durcheinander zu schieben. Nach einigen weiteren Stunden sind die einzelnen Fäden schon so lang, dass sie durch mehrere Gesichtsfelder reichen; sie gleichen einem Haufen Glasfäden, welche nach Art von Schlingpflanzen sich in der verschiedensten Weise bald zu langen parallelen Zügen oder zu äusserst zierlichen spiralförmig gedrehten Bündeln vereinigen, bald aber in den unregelmässigsten Figuren zu einem unentwirrbaren Knäuel verschlingen,

¹⁾ Unter verschiedenen Arten hohlgeschliffener Objectträger fand ich am bequemsten einen von 3 Mm. Dicke, welcher, beiläufig bemerkt, 60 Mm. lang und 20 Mm. breit ist. Seine obere Fläche ist matt geschliffen; der Hohlraum hat die Form eines Kugelabschnittes, einen Durchmesser von 14 Mm. und eine Tiefe von 1,5 Mm. Hartnack'sche Deckgläschen von 18 Mm. Quadrat und 0,15 Mm. Dicke lassen sich auf solchen Objectträgern sehr gut durch Oel luftdicht befestigen. Dem Tropfen auf der unteren Seite des Deckglases gab ich einen Durchmesser von ungefähr 5—7 Mm., so dass er vom Oel ringsum ungefähr noch 3—5 Mm. entfernt bleibt und dieses ihn, selbst wenn es unter dem Deckglas etwas nach innen fliesst, nicht leicht erreichen kann. Zu Kulturversuchen im Brütapparat habe ich Objectträger mit einem darauf befestigten Paraffinring sehr praktisch gefunden, man kann sich dieselben, in jeder beliebigen Grösse und Form, leicht selbst anfertigen und ganz in derselben Weise wie hohlgeschliffene Objectträger benutzen.

Al di sopra, lungo il bordo della goccia, venne applicata un'esigua quantità di sostanza della milza, contenente bacilli, e il vetrino di copertura fu immediatamente messo sul tavolo immobile oleato. Il piccolo spazio concavo si riempie velocemente di vapore acqueo e l'iniziale evaporazione della goccia è così esigua che, solamente al bordo esterno, alcune gocce si asciugano; in seguito, la goccia mantiene per giorni invariato il suo aspetto. Questo preparato così realizzato, fu quindi portato sul tavolo immobile riscaldato e, dopo che le correnti si furono posizionate nel liquido in fase di riscaldamento, alcune fissatesi più verso l'interno della goccia a dei bacilli lì posizionati, disegnarono velocemente la loro forma e posizione e si avviarono verso l'alto sul TUBUS, per evitare un raffreddamento irregolare e troppo lungo del preparato. Durante l'analisi successiva, intrapresa ogni 10 fino a 20 minuti, venne constatato che, inizialmente, i bacilli diventano più grossi e si gonfiano visibilmente ma, nelle prime due ore, si modificano a malapena. Poi però inizia la loro crescita. Già dopo 3-4 ore hanno raggiunto 10-20 volte la loro lunghezza, iniziano a curvarsi, reciprocamente a spostarsi oppure a spingersi, intrecciandosi alla rinfusa. Dopo alcune ulteriori ore, i singoli fili sono talmente lunghi che raggiungono diversi campi visivi; si assomigliano ad un mucchio di fili di vetro che, tipo le piante rampicanti, si uniscono nelle svariate maniere in lunghi tratti paralleli o in fasci, particolarmente fragili, arrotolati a forma di spirale, ma che presto si intrecciano, con le figure più irregolari, in un gomitolo inestricabile, in modo che diventa totalmente impossibile poter continuare a inseguire il singolo filo per tutta la sua lunghezza.

so dass es ganz unmöglich wird, den einzelnen Faden in seiner ganzen Länge weiter zu verfolgen.

Betrachtet man das freie Ende eines Fadens andauernd durch längere Zeit, etwa 15 bis 20 Minuten, dann vermag man leicht die fortwährende Verlängerung desselben direct wahrzunehmen und kann sich so das merkwürdige Schauspiel von dem sichtbaren Wachsen der Bacillen verschaffen und die unmittelbare Ueberzeugung von ihrer Weiterentwicklung gewinnen. Schon nach 10 bis 15 Stunden erscheint der Inhalt der kräftigsten und am üppigsten gewachsenen Fäden fein granulirt und bald scheiden sich in regelmässigen Abständen sehr kleine mattglänzende Körnchen ab, welche sich nach einigen weiteren Stunden zu den stark lichtbrechenden eirunden Sporen vergrössern. Allmählich zerfallen dann die Fäden, zerbröckeln an ihren Enden, die Sporen werden frei, sinken dem Gesetze der Schwere folgend in die unteren Schichten des Tropfens und sammeln sich hier in dichten Haufen an. In diesem Zustande bleibt dann das Präparat wochenlang unverändert. Die auf der Tafel XI. befindlichen Abbildungen geben ein möglichst getreues Bild (Fig. 1—4) von den eben geschilderten verschiedenen Entwicklungsstufen des *Bacillus Anthracis*.

Auch in den Präparaten, welche nach dieser Methode angefertigt und behandelt wurden, traten bisweilen verschiedenartige Bacterien in grossen Schwärmen und ruhenden Colonien als ungebetene Gäste auf und störten die Beobachtung der späteren Entwicklungsstadien des *Bacillus Anthracis*. Sobald man aber eine grössere Anzahl von Präparaten mit einiger Sorgfalt unter Anwendung von möglichst frischem, reinem *Humor aqueus* oder Blutserum und unmittelbar dem todtten Thierkörper entnommener Milzsubstanz anfertigt und in den Brütapparat bringt, wird man mindestens in der Hälfte, öfter in allen, bei wiederholter Untersuchung eine vollkommene reine Cultur von Milzbrandbacillen finden. Bleibt unter den im Vorhergehenden angegebenen Bedingungen die Entwicklung der Bacillen ganz aus, oder wachsen letztere nur kümmerlich und kommen nicht zur Sporenbildung, dann liegt irgend ein Fehler in der Anordnung des Experimentes vor. Auf welche Kleinigkeiten es hierbei unter Umständen ankommt, mag man daraus ersehen, dass mir anfangs manche Culturen missglückten, weil ich alle Deckgläschen nach dem Gebrauch in eine Carbonsäurelösung legte und trotz sorgfältiger Reinigung durch den Geruch erkennbare Spuren von Carbonsäure bisweilen an den Gläschen haften blieben. Erst nachdem ich mich durch Controlversuche davon überzeugt hatte, dass schon so äusserst geringe

Se si osserva per lungo tempo continuamente la fine libera di un filo, da circa 15 fino a 20 minuti, allora si è in grado di percepire, in maniera lieve, direttamente il prolungamento continuo dello stesso e si ottiene così lo strano spettacolo della crescita visibile dei bacilli e ci si convince immediatamente del suo continuo sviluppo. Già dopo 10-15 ore il contenuto del filo più forte e rigoglioso appare finemente granulato e ben presto si separano, ad intervalli regolari, piccoli granuli opachi che, dopo alcune ore, si ingrandiscono fino a formare delle spore rifrangenti, tonde come uova. Gradualmente i fili si disintegrano, si sgretolano alla fine, le spore si liberano, affondano secondo la legge della verso lo strato inferiore della goccia e si raccolgono qui in fitti mucchi. In questo stato il preparato rimane invariato per settimane intere. Le raffigurazioni presenti sulla tavola XI. danno un'immagine (Fig. 1-4) il più fedele possibile dei diversi gradi di sviluppo del *Bacillus Anthracis*, poc'anzi descritto.

Anche nei preparati, realizzati e trattati secondo questo metodo, comparvero nel frattempo svariati batteri in grandi schiere e colonie, come ospiti importuni e disturbarono l'osservazione degli stadi successivi di sviluppo del *Bacillus Anthracis*. Ma, non appena si realizza con cura un numero maggiore di preparati, con l'utilizzo di *Humor aqueus*, possibilmente fresco e puro, oppure con siero ematico e sostanza della milza prelevata dal corpo morto dell'animale, e lo si porta nell'incubatrice, si troverà dopo ripetute analisi, nella metà o più spesso anche in tutti, una coltura completa di bacilli di carbonchio. Se, con le condizioni precedentemente esposte, lo sviluppo dei bacilli è del tutto assente, oppure se i bacilli crescono solo leggermente e non arrivano alla formazione delle spore, allora c'è qualche errore nella disposizione dell'esperimento. Da quali piccolezze dipende, forse lo si evince dal fatto che inizialmente alcune colture mi riuscirono male, poiché misi tutti i vetrini di copertura, dopo l'utilizzo, in una soluzione di acido di carbonio e, nonostante ogni accurata pulizia, tramite l'olfatto si riconobbero tracce di acido di carbonio attaccate al vetrino.

Mengen der Carbolsäure genügten, um die Cultur der Bacillen zu stören und demgemäss die Gläschen immer durch mehrfaches Abspülen von der Carbolsäure vollständig gereinigt hatte, blieb ich von diesen Misserfolgen verschont. Später wollte es mir einmal durchaus nicht mehr gelingen, die Fäden zur Sporenbildung zu bringen; sie wuchsen in eigenthümlichen gekräuselten, ziemlich langen Formen, verkümmerten aber schliesslich, nachdem sie nur vereinzelte oder gar keine Sporen angesetzt hatten. Ich suchte vergeblich den Grund in fehlerhafter Beschaffenheit des Wärmeapparates, der Nährflüssigkeit und dergl. Endlich fiel es mir auf, dass das zum Schliessen des Präparates benutzte Oel nach flüchtigen Fettsäuren roch und als ich nun zu gleicher Zeit mehrere Präparate genau in gleicher Weise anfertigte, aber für einige ranziges Oel, für andere tadelloses Provençeröl zum Befestigen des Deckglases gebrauchte, kamen die Bacillen in letzteren zur vollkommensten Sporenbildung, in ersteren zeigten sich nur spärliche Sporen. Da mir diese Wirkung der flüchtigen Fettsäuren, oder vielleicht nur einer bestimmten Säure, welche nicht einmal direct mit dem die Bacillen enthaltenden Tropfen in Berührung kamen, sondern nur durch ein sehr geringes Quantum ihrer Dämpfe darauf einwirken konnten, sehr merkwürdig erschien, so wiederholte ich diesen Versuch zu verschiedenen Zeiten und erhielt immer dasselbe Resultat.

3. Die Sporen des *Bacillus Anthracis* entwickeln sich unter gewissen Bedingungen (bestimmte Temperatur, Nährflüssigkeit und Luftzutritt) wieder unmittelbar zu den ursprünglich im Blute vorkommenden Bacillen. Dass die in den langen Fäden gebildeten glänzenden Körperchen in der That Sporen sind und nicht etwa zufällige Zersetzungsproducte oder Rückstände der absterbenden ausgewachsenen Bacillen, liess sich wohl schon von vorn herein nach Analogie der Entwicklungsgeschichten anderer Organismen aus der Reihe der Pilze und Algen mit Bestimmtheit annehmen. Später zu erwähnende Impfversuche mit Flüssigkeiten, welche nur Sporen von *Bacillus Anthracis* und keine Spur von Bacillen oder Fäden mehr enthielten und doch im Stande waren, mit derselben Sicherheit, wie mit frischen Bacillen Milzbrand zu erzeugen, bestätigten diese Vermuthung. Um aber einen vollständigen Einblick in den Lebenslauf des *Bacillus Anthracis* zu gewinnen und namentlich zu erfahren, ob die Sporen durch eine Zwischenform, etwa eine im Wasser lebende Schwärmspore, oder direct und in welcher Art und Weise wieder in die Bacillen übergehen, war es das Gerathenste, den einmal betretenen Weg weiter

Solo dopo che, con esami di controllo, mi convinsi che bastarono anche solo così esigue quantità di acido di carbonio per impedire la coltura dei bacilli e che, in base a questo, sciacquai accuratamente i vetrini da ogni traccia di acido di carbonchio, rimasi immune da tali insuccessi. In seguito, una volta, non mi volle proprio riuscire di portare i fili alla formazione delle spore; essi crebbero in forme arriciate in modo strano, particolarmente lunghe, deperirono però infine, dopo che ebbero formato solo singole spore o addirittura nessuna. Cercai inutilmente il motivo nella scarsa qualità dell'apparecchio riscaldante, del liquido nutritivo e simili. Finalmente mi venne in mente che, l'olio utilizzato per la chiusura dei preparati, odorò di acidi grassi e quando, contemporaneamente, realizzai molti preparati nello stesso modo, ma utilizzai, per il fissaggio del vetrino di copertura, per alcuni olio rancido, per altri olio provenzale impeccabile, in questi ultimi i bacilli giunsero a completa formazione delle spore, mentre nei primi si mostrarono solo spore scarse. Poiché, questo effetto dell'acido grasso mi apparve molto strano, ripetei questo esperimento diverse volte e ottenni sempre lo stesso risultato.

3. Le spore del *Bacillus Anthracis* si sviluppano in determinate circostanze (determinata temperatura, liquido nutritivo e afflusso di aria) inevitabilmente, trasformandosi nuovamente in quei bacilli presenti originariamente nel sangue. Che i granuli lucidi formati nei lunghi fili siano in realtà spore, e non casuali prodotti sostitutivi o residui dei bacilli morenti, lo si poté dedurre con certezza già secondo l'analogia della storia evolutiva di altri organismi della specie dei funghi e delle alghe. Tentativi di vaccinazione con liquidi contenenti solo spore di *Bacillus Anthracis* e nessuna traccia di bacilli o fili e che furono comunque in grado, con la stessa sicurezza dei bacilli, di produrre carbonchio, confermarono questa supposizione. Per avere però un quadro completo nel ciclo vitale del *Bacillus Anthracis* e per scoprire se le spore si trasformano nuovamente in bacilli, tramite una forma intermedia, come una spora acquatica vivente in colonia, la cosa più opportuna fu quella di proseguire lungo il cammino già intrapreso.

zu verfolgen. Womöglich musste erreicht werden, die Keimung der Sporen künstlich unter Verhältnissen vor sich gehen zu lassen, welche eine directe mikroskopische Beobachtung gestatten.

Alle Bemühungen, die Sporen in destillirtem Wasser und Brunnenwasser zur Fortentwicklung bei gewöhnlicher Temperatur oder bei 35° zu bringen, schlugen fehl. In Blutserum oder *Humor aqueus* nach der früher beschriebenen Methode in geschlossenen Zellen und im Brütapparat versuchte Culturen führten nur zu unvollkommenen Resultaten; es entwickelten sich unzweifelhafte Bacillen, welche zu langen Fäden auswuchsen und Sporen ansetzten; aber ihre Zahl war gering und der Uebergang einzelner Sporen in die Bacillen liess sich in dem Sporenhaufen nicht mit genügender Sicherheit verfolgen. Schliesslich schlug ich folgendes Verfahren ein, welches zum Ziele führte. Es wurden aus Präparaten, welche nach mikroskopischer Prüfung eine ganz reine Cultur von *Bacillus Anthracis* enthielten und nachdem die langen Fäden ganz oder grösstentheils zerfallen waren, Tröpfchen mit Sporenmassen entnommen, auf ein Deckglas gebracht und theilweise dicht neben dem Rande desselben, theilweise mehr nach der Mitte zu schnell eingetrocknet. Dieses Eintrocknen hat den Zweck, dass die Sporenhäufchen zusammengehalten und nicht von der Nähr-Flüssigkeit auseinandergeschwemmt und zu sehr zerstreut werden. Die Sporenmassen blieben einige Stunden oder selbst Tage trocken; alsdann wurde auf einen gewöhnlichen (nicht hohl geschliffenen) Objectträger ein der Grösse des Deckglases entsprechender Tropfen *Humor aqueus* gebracht und das Deckglas so aufgelegt, dass die Sporenmassen von der Flüssigkeit benetzt wurden. Das Präparat, welches also nicht mit Oel abgeschlossen wird, kam in den früher beschriebenen feuchten Raum und mit diesem in den Brütapparat, welcher eine Wärme von 35° hatte.

Nach einer halben Stunde fingen die hier und da noch zwischen den Sporen liegenden Reste der ausgewachsenen Fäden an, vollständig zu zerfallen und nach ungefähr 1½ bis 2 Stunden waren sie verschwunden.

Schon nach 3—4 Stunden war eine Entwicklung der Sporen zu bemerken.

In den Sporenhäufchen am Rande des Deckglases war sie am weitesten fortgeschritten; denn sie hatten sich schon fast ganz in Fäden verwandelt; während nach der Mitte des Präparates zu alle Uebergänge von diesen Fäden bis zu den einfachen Sporen sich fanden. Nach Beobachtungen an zahlreichen derartigen Präparaten gestaltet sich der Vorgang bei der Sporenentwicklung folgendermassen.

Là dove possibile, si doveva riuscire a far andare per conto proprio la germinazione delle spore in circostanze artificiali, che consentì un'osservazione microscopica diretta.

Tutti gli sforzi di portare le spore allo sviluppo successivo in acqua distillata e acqua minerale, alla temperatura abituale o a 35°, andarono a vuoto. Le colture sperimentate col siero ematico o con *l'Humor acqueus*, secondo il metodo descritto in precedenza all'interno di celle chiuse e dell'incubatrice, portarono solamente a risultati incompleti; si svilupparono indubbiamente dei bacilli, che assunsero le dimensioni di lunghi fili e formarono le spore; ma il loro numero fu esiguo e il trapasso delle singole spore nei bacilli non si poté seguire con sufficiente sicurezza nell'ammasso di spore. Infine intrapresi il seguente metodo, che condusse all'obiettivo. Dai preparati che, secondo analisi microscopiche, contenevano una coltura di *Bacillus Anthracis* totalmente pura e, in seguito alla totale o parziale disgregazione dei fili, furono prelevate delle goccioline contenenti masse di spore, posizionate su un vetrino di copertura e fatte asciugare velocemente, in parte strettamente al bordo dello stesso, in parte più verso il centro. Questa asciugatura ha lo scopo di tenere uniti i mucchietti di spore, per evitare che il liquido nutritivo li separi e li distanzi troppo. Le masse di spore rimasero asciutte per ore o addirittura per giorni; quindi, su un normale tavolo immobile (non molato in modo concavo), fu posizionata una goccia di *Humor acqueus*, della grandezza del vetrino di copertura, e il vetro di copertura fu posizionato in modo che le masse di spore venissero inumidite dal liquido. Il preparato, che non viene concluso con l'olio, venne messo nell'ambiente umido, precedentemente descritto, e insieme a questo venne messo nell'incubatrice, che aveva una temperatura di 35°.

Dopo una mezz'ora, i resti dei fili completamente sviluppatasi e presenti ancora qua e là tra le spore, iniziarono a disgregarsi completamente e, dopo circa 1 ora e ½ - 2, furono scomparsi.

Già dopo 3-4 ore si poté notare uno sviluppo delle spore.

Negli ammassi di spore, al bordo del vetrino di copertura, fu maggiormente progredita; poiché lì si erano trasformati quasi totalmente in fili; mentre, verso il centro del preparato, si trovarono tutti i passaggi di questi fili fino alle semplici spore. Secondo l'osservazione di numerosi preparati di questo tipo, lo svolgimento dello sviluppo delle spore si presenta nel seguente modo.

Bei genauer Untersuchung mit stärkeren Vergrößerungen (z. B. Hartnack immers. 9) erscheint jede Spore von eiförmiger Gestalt und in eine kuglige glashelle Masse eingebettet, welche wie ein heller schmaler, die Sporen umgebender Ring aussieht, deren kuglige Form aber beim Rollen der Sporen nach verschiedenen Richtungen leicht zu erkennen ist. Diese Masse verliert zuerst ihre Kugelgestalt, sie verlängert sich in der Richtung der Längsachse der Sporen nach der einen Seite hin und wird langgezogen eiförmig. Die Spore bleibt dabei in dem einen Pol des kleinen walzenförmigen Körpers liegen. Sehr bald wird die glashelle Hülle länger und fadenförmig und zu gleicher Zeit fängt die Spore an ihren starken Glanz zu verlieren, sie wird schnell blass und kleiner, zerfällt wohl auch in mehre Partien, bis sie schliesslich ganz verschwunden ist. In Fig. 5 ist ein solcher Sporenhaufen mit den Uebergängen zu Fäden nach einem solchen Präparate wiedergegeben.

Später ist es mir auch oft gelungen in demselben Präparat und in demselben Tropfen *Humor aqueus* aus den Bacillen die Sporen und sofort aus diesen wieder eine zweite Generation von sporenhaltigen Fäden zu erziehen. Wenn nämlich nur wenige Bacillen in den Tropfen gelangten, hatte sich, wie auch sonst, ungefähr nach 20—24 Stunden die Sporenbildung vollzogen; das Nährmaterial war aber noch nicht verbraucht und einige Stunden später wuchsen die Sporen schon wieder zu Bacillen und diese zu Fäden aus.

Namentlich in derartigen Präparaten konnte der Uebergang der Sporen zu den Bacillen mit Sicherheit beobachtet werden; die Fig. 5 b. ist einem solchen Präparat entnommen und Herr Prof. F. Cohn hatte die Güte, diese Zeichnung unter Anwendung einer Vergrößerung mit Seibert immers. VIII. selbst anzufertigen. Aus diesen höchst einfachen Formveränderungen der Spore bei ihrer Keimung geht also hervor, dass sie aus einem stark lichtbrechenden Tröpfchen, vielleicht einem Oel, besteht, welches von einer dünnen Protoplasmaschicht eingehüllt ist. Letztere ist die eigentliche entwicklungsfähige Zellsubstanz, während ersteres vielleicht einen bei der Keimung zu verbrauchenden Reservestoff bildet.

Mit dieser letzten Reihe von Untersuchungen ist der Kreis, welcher von den Formveränderungen des *Bacillus Anthracis* gebildet wird, geschlossen und damit die vollständige Entwicklungsgeschichte desselben gegeben.

Da in den letzten Jahren oft die wunderbarsten Beobachtungen und die widersprechendsten Ansichten über krankheitserregende *Schizophyten* veröffentlicht sind und deswegen, wie ich schon früher

Durante un'analisi più precisa con ingrandimenti più potenti (ad es. immers. 9 di Hartnack) ogni spora pare assuma un aspetto a forma ovoidale e sembra collocata all'interno di una massa tonda chiara come il cristallo, la quale appare come un anello chiaro e sottile che avvolge le spore, la cui forma tonda è facilmente riconoscibile durante la rotazione delle spore in diverse direzioni. Questa massa perde inizialmente il suo aspetto tondo, si allunga in direzione dell'asse longitudinale delle spore verso un lato e viene allungata a forma ovoidale. La spora resta nel frattempo in un polo del piccolo corpo cilindrico. Molto presto, l'involucro chiaro diviene più lungo e a forma di filo e, contemporaneamente, la spora inizia a perdere il suo forte splendore, diventa velocemente pallida e più piccola, si disgrega anche in numerose parti, finché scompare totalmente. Nella fig. 5 è riportato un simile ammasso di spore con i passaggi ai fili, secondo un tale preparato.

Successivamente mi è anche riuscito spesso di allevare, nello stesso preparato e nella stessa goccia di *Humor aqueus* dei bacilli, le spore e, a partire da queste, immediatamente ad allevare nuovamente una seconda generazione di fili contenenti spore. Infatti, se capitarono solo pochi bacilli nelle gocce, dopo circa 20-24 ore, si compì, come anche altrimenti, la formazione delle spore; il materiale nutritivo non fu però ancora consumato e, alcune ore dopo, le spore si svilupparono nuovamente in bacilli, e questi in fili.

Specialmente in simili preparati, il passaggio delle spore in bacilli poteva essere osservato con sicurezza; la fig. 5b. è presa da un tale preparato e Signor Prof. F. Cohn fu così gentile da preparare egli stesso questa immagine con l'utilizzo di un ingrandimento con immers. VIII. di Seibert. Da queste trasformazioni particolarmente semplici della spora, durante la sua germinazione, si deduce che si compone da una gocciolina fortemente rifrangente, forse un olio, che è avvolto da un sottile strato di protoplasma.

Con questa ultima serie di analisi, il cerchio, che viene formato dai cambiamenti di forma del bacillo *Anthraxis*, è chiuso e con ciò è stata resa la completa storia evolutiva dello stesso.

Poiché negli ultimi anni sono state spesso pubblicate le osservazioni più affascinanti e le opinioni più contraddittorie sugli schizofiti e perciò, come accennai già precedentemente, lavori di questo tipo vengono accolti con una giustificata diffidenza sia dai botanici che dai medici, quindi voglio richiamare nuovamente l'attenzione sul fatto che, durante le mie analisi, non si tratta di un'osservazione singola e casuale, bensì di esperimenti ripetuti e svolti sempre con un sicuro successo.

andeutete, Arbeiten dieser Art sowohl von Botanikern als Aerzten mit einem wohl berechtigten Misstrauen aufgenommen werden, so mache ich nochmals besonders darauf aufmerksam, dass es sich bei meinen Untersuchungen nicht um eine zufällige, vereinzelte Beobachtung, sondern um möglichst oft wiederholte, mit vollständig sicherem Erfolg zu jeder Zeit anzustellende Experimente handelt.

Um Jeden, der ein Interesse für die Sache hat, in den Stand zu setzen, ohne Schwierigkeit sich selbst durch den Augenschein von der Richtigkeit des Resultates meiner Untersuchungen zu überzeugen, habe ich die oft durch mühevollen und zeitraubenden Versuche gewonnenen Methoden, nach denen ich gearbeitet habe, möglichst genau beschrieben. Ganz besonderes Gewicht lege ich übrigens noch darauf, dass Herr Prof. F. Cohn sich auf meine Bitte, der mich zu besonderem Danke verpflichtenden Mühe unterzog, meine Angaben über die Entwicklungsgeschichte des *Bacillus Anthracis* eingehend an einer Reihe von Präparaten und von mir im pflanzenphysiologischen Institut zu Breslau angestellten Experimenten zu prüfen und in allen Punkten zu bestätigen.

Die auf die Anthraxbacillen bezügliche Literatur ist mir nur theilweise zugänglich gewesen und ich muss daher auf eine vollständige Angabe derselben verzichten. Nur einige Arbeiten, welche mir erst nach Auffindung der Entwicklungsgeschichte des *Bacillus Anthracis* zur Kenntniss kamen, möchte ich mit einigen Worten berühren. Bollinger¹⁾ meint, dass die Bacillen aus Reihen von Kugelbakterien zusammengesetzt sind, in welche sie gelegentlich zerfallen, und dass diese Kugelbakterien allein im Blute vorkommen, sich durch Theilung vermehren und zu Reihen vereinigt wieder Stäbchen bilden können. Fast könnte es hiernach scheinen, als ob Bollinger auch die Sporenbildung gesehen hätte. Doch ist dies nicht der Fall, denn er giebt an, nur einmal Bacillen von 0,05 Mm. Länge gesehen zu haben, eine Grösse, bei welcher die Bacillen noch nicht zur Sporenbildung kommen. Auch die l. c. p. 465 gegebene Abbildung enthält nur abgestorbene Bacillen, auf deren Form ich später zurückkomme.

Im dritten Heft des ersten Bandes dieser Beiträge p. 200 äussert F. Cohn bei der Besprechung der eben angeführten Angaben Bollinger's, dass er die Milzbrandstäbchen dennoch für Bacillen halte und dass man nach Analogie anderer Bacillen eine Fortpflanzung derselben durch kugelige Dauersporen erwarten müsse; eine Ver-

¹⁾ Ziemssen's Handb. der spec. Pathol. und Therap. Bd. 3. p. 464.

Per mettere ognuno, che abbia un interesse per la faccenda, nella condizione di accertarsi personalmente e senza difficoltà dell'esattezza del risultato dei miei esperimenti, ho descritto i metodi, secondi i quali ho lavorato, nel modo più preciso possibile. Tra l'altro, do un particolare peso al fatto che, il Signor Prof. F. Cohn, su mia richiesta, esaminò e confermò in tutti i punti i miei apporti sulla storia evolutiva del bacillo *Anthraxis* e i miei esperimenti eseguiti a Breslau nell'istituto fisiologico-floristico.

La letteratura relativa ai bacilli dell'antrace mi è stata solo in parte accessibile e devo perciò rinunciare ad una completa indicazione della stessa. Voglio toccare con alcune parole solamente alcuni lavori, dei quali venni a conoscenza solo dopo la scoperta della storia evolutiva del bacillo *Anthraxis*. Bollinger⁵ sostiene che, i bacilli siano costituiti da una serie di batterie tondi, nei quali si disintegrano occasionalmente, e che questi batteri tondi siano presenti solamente nel sangue, si moltiplichino tramite suddivisione e, riuniti in file, possano formare nuovamente bastoncini. In base a ciò, potrebbe quasi sembrare che, Bollinger abbia visto anche la formazione delle spore. Eppure non è questo il caso, poiché egli sostiene di aver visto solo una volta dei bacilli lunghi 0,05 mm, una grandezza con la quale i bacilli non arrivano ancora alla formazione delle spore. Anche la raffigurazione a pag. 465 contiene solamente bacilli morti, sulla cui forma ritornerò più avanti.

Nel terzo quaderno del primo volume di questi articoli, p. 200, F. Cohn afferma, durante la discussione sugli apporti di Bollinger, che ritiene i bastoncini di carbonchio dei bacilli e che ci sia da aspettarsi una successiva piantagione degli stessi, secondo analogia con altri bacilli, tramite spore tonde durature;

⁵ Tascabile Ziemssen, Lo specialista Patologo e Terapeuta, fig. 3, p. 464.

muthung, welche sich sehr bald verwirklicht hat. Die neueste Veröffentlichung über Milzbrandbakterien, welche von C. O. Harz herrührt, enthält nach dem mir vorliegenden Referat (Allgem. med. Centralzeitung 1876 No. 33) nur negative Resultate, welche den von mir erhaltenen positiven gegenüber ihre Bedeutung verlieren müssen.

III. Biologie des Bacillus Anthracis. Die Möglichkeit, den *Bacillus Anthracis* unter künstlichen Verhältnissen zu sporenhaltigen Fäden und seine Sporen wieder zu Bacillen zu entwickeln, beweist natürlich noch nicht, dass das Vorkommen des Milzbrandes unter allen Umständen auf die verschiedenen Entwicklungsformen dieser Bacterienart zurückgeführt werden müsse. Da er im lebenden Organismus, wie früher gezeigt wurde (allerdings vorläufig nur für die Thierspecies, mit welcher experimentirt wurde, beweisend), sich nicht weiter entwickelt, so kann nur durch Versuche über das Verhalten des *Bacillus Anthracis* unter Bedingungen, welchen er auf seinem muthmasslichen Wege nach dem Absterben des von ihm bewohnten Thieres unterworfen ist, eine Aufklärung hierüber gesucht werden.

Um nicht zu ausführlich zu werden, muss ich die sehr umfangreichen in dieser Richtung angestellten Versuchsreihen kurz zusammenfassen.

Substanzen, welche Milzbrandbacillen enthalten, können in trockenem Zustande oder in Flüssigkeiten suspendirt verbreitet werden. Dass sie eingetrocknet lange Zeit wirksam sein können, war schon bekannt; doch schwanken die Angaben über die Dauer dieser Wirksamkeit. Um diese letzteren genauer zu bestimmen, wurden folgende Versuche gemacht:

Milz, Lymphdrüsen, Blut von Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen wurden sofort, nachdem sie dem Thierkörper entnommen waren, an einem schattigen luftigen Ort getrocknet, und zwar in grösseren Stücken, in kleineren ungefähr erbsen- bis hiersekorn-grossen Massen und in am Deckglase eingetrockneten dünnen Schichten. Mit diesem Material wurde anfangs täglich, später von zwei zu zwei Tagen zu gleicher Zeit, nachdem eine entsprechende Menge in *Humor aqueus* aufgeweicht war, eine oder mehrere Mäuse geimpft und ein Culturversuch in einer Paraffinzelle gemacht. Die in sehr dünnen Lagen eingetrockneten Bacillenmassen verloren, je nach ihrer Dicke, nach 12—30 Stunden ihre Impffähigkeit und ebenso auch die Möglichkeit, im Brütapparat zu langen Fäden heranzuwachsen. Unmittelbar nach dem Anfeuchten hatten die Bacillen dasselbe Aussehen, wie im frischen Zustande; aber sie zerfielen sehr bald unter später genauer zu beschreibenden Veränderungen, sie waren also, nachdem

un'ipotesi che si è presto rivelata verità. L'ultima pubblicazione sui batteri di carbonchio, che trae origine da C. O. Harz, contiene, secondo la relazione pervenutami (Rivista centrale di medicina generale 1876, n. 33), solamente risultati negativi, i quali devono perdere il loro significato contro i miei risultati positivi ottenuti.

III. Biologia del bacillo Anthracis. La possibilità di sviluppare il bacillo *Anthracis*, in condizioni artificiali, in fili contenenti spore e le sue spore nuovamente in bacilli, non dimostra ancora che la comparsa del carbonchio sia da ricondurre in ogni caso alle diverse forme di sviluppo di questa specie di batteri. Come dimostrato precedentemente (tuttavia provvisoriamente provato solamente per le specie animali con le quali furono eseguiti gli esperimenti), dato che nell'organismo vivente non si evolve, vi può essere cercata una spiegazione solamente tramite esperimenti sul comportamento del bacillo *Anthracis* nelle condizioni, alle quali è sottoposto durante il suo cammino, in seguito alla morte dell'animale da lui abitato.

Per non diventare troppo dettagliato, devo riassumere brevemente i numerosi filoni di esperimenti esposti in questa direzione.

Le sostanze che contengono i bacilli di carbonchio, possono essere preparate in condizioni asciutte o sospese in liquidi. Il fatto che asciutte possano essere efficaci per lungo tempo, fu già noto; ma oscillarono i dati sulla durata di questo effetto. Per poter determinare meglio questi ultimi, furono fatti i seguenti esperimenti:

Milza, ghiandole linfatiche, sangue di topi, conigli e porcellini d'india furono messi ad asciugare in un posto ombreggiato e arieggiato, subito dopo essere stati estratti dal corpo animale, e cioè in pezzi grossi, in masse più piccole, circa della grandezza di piselli e in strati sottili asciugati sul vetrino di copertura. Con questo materiale furono vaccinati, inizialmente giornalmente, poi ogni due giorni, dopo che una certa quantità si fu ammorbidita in *Humor aqueus*, uno o più topi e fatto un tentativo di coltura in una cellula di paraffina. Le masse di bacilli asciugate in strati molto sottili persero, in base al loro spessore, dopo 12-30 ore la loro capacità inoculante e altresì anche la possibilità di poter evolversi, all'interno dell'incubatrice, in lunghi fili. Immediatamente dopo l'umidificazione, i bacilli ebbero lo stesso aspetto come in condizioni asciutte; ma si disgregarono presto sotto cambiamenti, descrivibili meglio in seguito; quindi furono, dopo che persero una gran parte della loro umidità, morti.

sie einen gewissen Theil ihrer Feuchtigkeit verloren hatten, abgestorben. Dickere getrocknete Stücke hielten sich zwei bis drei Wochen impf- und entwicklungsfähig. Noch grössere behielten ihre Wirksamkeit, offenbar weil sie langsamer vollkommener lufttrocken werden, gegen vier bis fünf Wochen. Aber längere Zeit hindurch frisch getrocknete bacillenhaltige Massen impffähig zu erhalten, ist mir nie gelungen, obwohl ich diese Versuche in der verschiedensten Weise modificirt und wiederholt habe, weil ich, auf Davaine's Angaben mich verlassend, anfangs bestimmt glaubte, mir auf diese Weise frisch erhaltene Milzbrandsubstanzen für spätere Versuche sichern zu können; doch wurde ich stets auf das Empfindlichste getäuscht und musste meine Arbeiten deswegen mehrfach unterbrechen, bis es mir später gelang, in anderer Weise einen stets wirksamen Impfstoff zu gewinnen und mich dadurch vom Zufall unabhängig zu machen.

Auf eine Erscheinung, welche bei dieser Versuchsreihe recht auffallend hervortrat, muss ich noch besonders aufmerksam machen, dass nämlich nur solche getrocknete Substanzen Milzbrand hervorriefen, aus welchen bei den gleichzeitig angestellten Culturversuchen sich sporenhaltige Fäden entwickelten und umgekehrt. Es würde diese Beobachtung allein schon genügen, um die directe Uebertragbarkeit des Milzbrandes als von dem Vorhandensein lebensfähiger Bacillen abhängig zu beweisen.

Ehe ich zu den Versuchen über Milzbrandflüssigkeiten übergehe, muss ich eine Reihe von Culturversuchen bei verschiedenen Temperaturen erwähnen. Es war mir hauptsächlich darum zu thun, die unterste Temperaturgrenze zu finden, bei welchen der *Bacillus Anthracis* noch keimfähige Sporen zu entwickeln vermag. Es wurden also eine Anzahl Paraffinzellen in der früher beschriebenen Weise mit Nährflüssigkeit und frischen lebenskräftigen Bacillen besetzt und bei verschiedenen Temperaturen aufbewahrt. Da dieses Experiment während des Winters angestellt wurde, so war es mir leicht, einzelne Präparate in einem bis auf 5° abgekühlten Raum zu halten. Die höheren Temperaturen (über 40°) wurden mittelst des heizbaren Objecttisches erhalten. Hierbei stellte sich heraus, dass die Fäden am schnellsten bei 35° wachsen; schon nach 20 Stunden können sie bei dieser Temperatur mit den schönsten Sporen versehen sein. Bei 30° zeigen sich die Sporen etwas später, nämlich nach ungefähr 30 Stunden. Bei noch niedrigerer Temperatur wird auch die Entwicklung der Bacillen entsprechend langsamer. Bei 18—20°

rinunciare a questo metodo radicale. Ma, se si riuscisse a impedire, o almeno ridurre al Parti asciutte più grosse mantennero per due o tre settimane la loro capacità inoculante e di sviluppo. Delle parti ancora più grandi mantennero il loro effetto, apparentemente perché si asciugano completamente più lentamente, intorno a quattro fino a cinque settimane. Ma non mi è mai riuscito di far mantenere alle masse asciugate da poco, contenenti bacilli, la capacità inoculante per una durata maggiore, nonostante io abbia ripetuto e modificato i tentativi nei modi più vari poiché, basandomi sui dati di Davaine, inizialmente pensai di potermi assicurare in questa maniera sostanze fresche, contenenti carbonchio, per gli esperimenti successivi; ma ne fui deluso e dovetti interrompere ripetutamente i miei lavori, finché in seguito mi riuscì di estrarre, in un modo diverso, una sostanza inoculante altrettanto efficace, in modo da potermi rendere così indipendente dal caso.

Voglio richiamare l'attenzione riguardo ad un fenomeno che si manifestò con molta evidenza durante questa serie di esperimenti, cioè che il carbonchio fu provocato solamente da quelle sostanze, dalle quali si formarono, contemporaneamente durante gli esperimenti di colture, i fili contenenti le spore, e viceversa. Basterebbe già solamente questa osservazione per provare in maniera dipendente la trasmissione diretta del carbonchio dalla presenza di bacilli vitali.

Prima di passare agli esperimenti sui liquidi del carbonchio, devo menzionare una serie di esperimenti di colture sotto diverse temperature. Mi applicai soprattutto al fine di trovare il limite minimo della temperatura, nel quale il bacillo *Anthraxis* è ancora in grado di sviluppare spore atte alla germogliazione. Fu preparata, nella maniera descritta precedentemente, una quantità di cellule di paraffina con liquido nutritivo e bacilli vitali freschi, e conservata a differenti temperature. Dato che questo esperimento è stato condotto durante l'inverno, mi fu abbastanza semplice riuscire a conservare i singoli preparati in un ambiente raffreddato fino a 5°. Le temperature più elevate (oltre 40°) furono ottenute mediante il tavolo immobile riscaldabile. In questo modo risultò che, i fili si sviluppano più velocemente a 35°; già dopo 20 ore, a questa temperatura, possono essere dotati delle più belle spore. A 30° le spore si manifestano un po' in ritardo, e cioè dopo circa 30 ore. A temperature ancora più basse, anche lo sviluppo dei bacilli diventa rispettivamente più lento.

(Cels.), also gewöhnlicher Zimmertemperatur, brauchen sie ungefähr zwei und einen halben bis drei Tage zur Sporenentwicklung. Unter 18° kommt es nur noch ausnahmsweise zur Sporenbildung und unter 12° habe ich überhaupt kein Wachsthum der Fäden mehr beobachtet. Ueber 40° wird die Entwicklung der Bacillen kümmerlich und schien mir bei 45° aufzuhören; doch habe ich die Versuche über die oberen Temperaturgrenzen für das Wachsthum der Bacillen nicht oft genug wiederholt (da der heizbare Objecttisch immer nur die Beobachtung eines einzelnen Präparates zulässt), um dieselbe ganz genau angeben zu können.

Ich komme nun auf das für die Aetiologie des Milzbrandes so äusserst wichtige Verhalten der Bacillen in verschiedenen Flüssigkeiten und unter möglichst natürlichen Bedingungen. Da von dem mir zu Gebot stehenden Versuchsthier, der Maus, nur ein sehr geringes Quantum Blut zu erhalten war und dieses Blut ausserdem noch sehr wenige Bacillen enthält, so nahm ich frisches Rinderblut oder den von mir mit Vorliebe gebrauchten *Humor aqueus*, einigemale auch Glaskörper von Rinderaugen und zerrieb in diesen Flüssigkeiten frische bacillenhaltige Mäusemilz, so dass das Gemenge in der Zusammensetzung ungefähr dem Blute, serösen und schleimigen Flüssigkeiten von an Milzbrand gefallenen Thieren glich.

Derartige Flüssigkeiten in ein gut verkorktes Glas gefüllt, nehmen im Brütapparat sehr schnell einen höchst penetranten Fäulnissgeruch an. Die Bacillen sind schon nach 24 Stunden verschwunden, ohne dass sie zu Fäden ausgewachsen wären und es gelingt dann nicht mehr, damit Milzbrand zu erzeugen. Davon dass das Absterben der Bacillen in diesem Falle weniger von dem Einfluss der sich entwickelnden Fäulnissgase, welche nicht entweichen können, sondern von dem Mangel an Sauerstoff abhängt, kann man sich leicht durch folgendes Experiment überzeugen. Ein zwischen einem gewöhnlichen Objectträger und Deckglas ohne Luftblasen befindlicher bacillenhaltiger Blutstropfen wird durch eine auf den Rand gepinselte Oel-schicht luftdicht eingeschlossen und auf dem heizbaren Objecttisch erwärmt. Das Blut zeigt mit dem Mikrospektroskop untersucht anfangs die beiden Streifen des Oxyhämoglobin; dabei fangen die Bacillen ganz wie in den Zellenpräparaten, an sich zu verlängern und erreichen nach ungefähr drei Stunden die 4–5fache Länge. Dann ist der Sauerstoff verbraucht, es verschwinden die beiden Streifen und es erscheint dafür der zwischen beiden liegende Streifen des reducirten Hämoglobin. Von diesem Zeitpunkte an hört auch das weitere Wachsthum der Bacillen vollständig auf, obwohl noch

A 18°-20° (Cels.), ovvero alla normale temperatura d'ambiente, necessitano di circa due giorni e mezzo fino a tre per lo sviluppo delle spore. Sotto i 18° si arriva solo in via eccezionale alla formazione delle spore e, sotto i 12°, non ho potuto osservare alcuna crescita dei fili. Oltre i 40° la crescita dei bacilli diventa stentata e mi parve che si interrompe a 45°; ma, le prove per la crescita dei bacilli oltre i limiti di temperatura massima non le ho ripetute abbastanza (poiché il tavolo immobile riscaldabile consente sempre e solamente l'osservazione di un unico preparato), per poterle segnalare in modo preciso. Parlerò ora di quel comportamento dei bacilli, talmente importante per l'eziologia del carbonchio, nei diversi liquidi e sotto diverse condizioni, possibilmente naturali. Poiché, dalla cavia a mia disposizione (un topo) potevo ricavare solamente una quantità molto esigua di sangue e, questo sangue, oltretutto contenevano pochissimi bacilli, utilizzai del sangue fresco bovino oppure, con predilezione, *l'Humor aqueus*, alcune volte anche corpi vitrei degli occhi dei bovini, e sminuzzai in questi liquidi della milza di topo fresca, contenente bacilli, in modo che il composto assomigliasse, nel contenuto, all'incirca al sangue e ai liquidi sierosi e mucosi degli animali morti di carbonchio.

Tali liquidi, versati in un bicchiere ben chiuso, assumono nell'incubatrice ben presto un odore di putrefazione, altamente penetrante. I bacilli sono scomparsi già dopo 24 ore, senza che si siano sviluppati in fili, e non si riuscì più a generare il carbonchio. Il fatto che, in questo caso, la morte dei bacilli dipenda meno dall'influsso dei gas di putrefazione in fase di sviluppo, i quali non possono fuoriuscire, ma dalla mancanza di ossigeno, lo si può evincere dal seguente esperimento. Una goccia di sangue contenente bacilli e senza bolle d'aria, posizionata tra un normale vetrino e un vetrino di copertura, viene chiusa ermeticamente da uno strato di olio spennellato sul bordo e surriscaldato sul tavolo immobile riscaldabile. Il sangue, esaminato con il microspettroscopio, mostra inizialmente le due fasce di emoglobina ossigenata; contemporaneamente, i bacilli iniziano ad allungarsi, proprio come nei preparati delle cellule, e raggiungono nel giro di circa tre ore 4-5 volte la loro lunghezza. Allora, l'ossigeno è consumato, le due fasce scompaiono e compare, per contro, la fascia dell'emoglobina ridotta, posizionata tra le due altre fasce. Da questo momento in poi, si interrompe totalmente anche l'ulteriore crescita dei bacilli, nonostante non si noti ancora nessun batterio di putrefazione e la vera e propria putrefazione non sia ancora comparsa⁶.

⁶ Nel corpo, non aperto, di un animale morto di carbonchio, i bacilli non si allungano per niente, oppure abbastanza poco, anche se il cadavere viene lasciato per molto tempo ad una temperatura di 18°-20°; evidentemente, perché l'ossigeno del sangue, in seguito alla morte, viene consumato in fretta per via del processo di ossidazione e quindi non viene sostituito.

keine Fäulnisbakterien bemerkt werden und die eigentliche Fäulnis noch nicht eingetreten ist¹⁾. An einem solchen Präparate kann man, wenn es bei niedriger Temperatur gehalten wird, in vorzüglicher Weise die Veränderungen der Bacillen beim Absterben studiren. Dieser Vorgang gestaltet sich folgendermassen. Während frische Bacillen und im kräftigen Wachsthum befindliche (mit Ausnahme des Zeitpunktes dicht vor der Sporenbildung) immer einen homogenen glashellen Inhalt haben und nur ganz vereinzelt eine sonst nur durch winklige Knickungen angedeutete Gliederung zeigen, erkennt man in den absterbenden Bacillen als erstes Symptom eine Trübung des Inhalts und eine Sonderung desselben in kürzere Abtheilungen. Die Bacillen erscheinen dann mehr oder weniger deutlich gegliedert, namentlich so lange noch die äusserst feine Zellenmembran diese Theile scheidenartig umhüllt und zusammenhält. Aber sehr bald verlieren die Bacillen ihre scharfen Contouren, sie scheinen aus kurzen, rundlichen, lose zusammenhängenden Stückchen zu bestehen und zerfallen schliesslich vollständig. Die mir vorliegende Abbildung Bollinger's (l. c. p. 465) ist eine ziemlich getreue Darstellung solcher abgestorbener Bacillen. Ich habe einzelne in dieser Weise zerfallende Bacillen in den verschiedensten Präparaten oft tagelang von Zeit zu Zeit beobachtet, habe aber niemals einen Uebergang derselben in Micrococcen oder dergleichen gesehen.

Ganz andere Bilder gewähren dagegen bei öfters wiederholter Untersuchung die genannten bacillenhaltigen Flüssigkeiten, wenn der Zutritt von Sauerstoff, und sei es auch nur in sehr geringer Menge, gestattet wird und ihre Temperatur nicht dauernd unter 18° herabsinkt. Sehr gut lassen sich die hierbei eintretenden Veränderungen verfolgen, wenn ungefähr 10--20 Gramm der Flüssigkeit in einem Uhrglase, auf welches eine nicht festschliessende Glasplatte aufgelegt wird, mehrere Tage bei Zimmertemperatur bleiben. Die Flüssigkeit nimmt schon nach 24 Stunden Fäulnisgeruch an, der nach weiteren 24 Stunden gewöhnlich sehr penetrant ist. Dem entsprechend finden sich auch sehr bald Micrococcen und Bacterien in grosser Menge. Daneben aber gedeiht der *Bacillus Anthracis* so gut, als ob er der alleinige Bewohner der Nährflüssigkeit wäre. Seine Fäden erreichen schon nach 24 Stunden eine beträchtliche

¹⁾ Im nicht geöffneten Körper eines an Milzbrand gestorbenen Thieres verlängern sich die Bacillen, auch wenn der Cadaver längere Zeit bei einer Temperatur von 18--20° gelassen wird, nur sehr wenig oder gar nicht; offenbar weil der Sauerstoff des Blutes nach dem Tode schnell durch Oxydationsprocesse verbraucht und nicht wieder ersetzt wird.

Per un simile preparato, se la temperatura viene mantenuta bassa, si possono studiare in modo eccellente i cambiamenti dei bacilli durante la morte. Questo processo si presenta nel seguente modo. Mentre i bacilli freschi, in forte crescita (ad eccezione del momento prima della formazione delle spore), hanno sempre un contenuto omogeneo e chiaro e mostrano sporadicamente una strutturazione accennata, che solitamente appare solo tramite piegamenti tortuosi, nei bacilli in fase terminale si riconosce, come primo sintomo, un intorbidamento del contenuto e una sua separazione in suddivisioni più piccole. I bacilli appaiono così più o meno evidentemente suddivisi, specialmente fino a quando la fine membrana esterna delle cellule ricopre queste parti, tipo guaina, e le tiene unite. Ma molto presto, i bacilli perdono i loro contorni forti, sembrano composti da piccoli pezzetti tondeggianti, attaccati tra loro solo per un filo e infine si disgregano completamente. La raffigurazione a mia disposizione di Bollinger (l. c. p. 465) è una rappresentazione abbastanza fedele di questi bacilli privi di vita. Ho osservato singolarmente, per giorni e giorni, i bacilli deceduti in questa maniera nei diversi preparati, ma non ho mai notato un loro passaggio in micrococchi o simili.

Immagini del tutto differenti rappresentano invece, grazie ad esperimenti spesse volte ripetuti, i liquidi citati, contenenti bacilli, nel momento in cui viene consentito l'accesso dell'ossigeno, anche se solo in piccole quantità, e la loro temperatura non scende costantemente al di sotto dei 18°. I cambiamenti, che in questo modo compaiono, si possono seguire molto attentamente, nel momento in cui circa 10-20 grammi del liquido rimangono, per molti giorni a temperatura ambiente, in un vetro di orologio, sul quale viene posta una lastra di vetro non ermetica.

Länge und haben öfters schon nach 48 Stunden und selbst noch zeitiger Sporen in grosser Menge angesetzt¹⁾. Nach der Sporenentwicklung zerfallen die Fäden und die Sporen sinken zu Boden. Die Vegetation der übrigen Schizophyten, welche zufällig in die Flüssigkeit eindringen und sich darin vermehren, geht noch Tage lang in üppigster Weise weiter. Allmählich aber verschwinden auch diese, der charakteristische Fäulnissgeruch nimmt ab, schliesslich bildet sich ein schlammiger Bodensatz und die darüber stehende Flüssigkeit wird arm an geformten Bestandtheilen und fast klar. Sie hat zuletzt einen schwachen Geruch nach Leim oder Käse, verändert sich, wenn sie bisweilen durch den Zusatz von destillirtem Wasser vor dem Austrocknen geschützt wird, nicht mehr und ist vollständig ausgefault.

Wurden bacillenhaltige Substanzen mit destillirtem oder Brunnenwasser mässig verdünnt, dann verhindert das die Sporenbildung nicht; aber bei stärkerer Verdünnung entwickeln sich die Bacillen nicht mehr²⁾, sie sterben bald ab und erzeugen ungefähr nach 30 Stunden eingepflicht keinen Milzbrand mehr. Die Nährflüssigkeit muss also eine gewisse noch näher zu bestimmende Menge an Salzen und Eiweiss enthalten, damit die Bacillen bis zur Sporenbildung kommen können.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, dass die meisten Cadaver der an Milzbrand gefallenen Thiere, welche im Sommer mässig tief eingescharrt werden, oder längere Zeit auf dem Felde, im Stalle, in Abdeckereien liegen, ebenso die blut- und bacillenhaltigen Abgänge der kranken Thiere im feuchten Boden oder im Stalldünger mindestens ebenso günstige Bedingungen für die Sporenbildung des *Bacillus Anthracis* bieten, als es in den vorher geschilderten Versuchsreihen der Fall ist. Durch diese Experimente würde also der Beweis geliefert sein, dass nicht blos durch künstliche Züchtung im Ausnahmefalle die Sporen des *Bacillus Anthracis* entstehen, sondern dass dieser Parasit in jedem Sommer im Boden, dessen Feuchtigkeit das Austrocknen der den Höhlungen des noch lebenden oder schon abgestorbenen milzbrandigen Thieres entströmenden Nährflüssigkeit verhindert, seine Keime in unzählbarer Menge ablagert.

Dass sich diese Keime im Wasser nicht verändern, aber in

¹⁾ In Paraffinzellen zu gleicher Zeit und unter denselben Verhältnissen gezüchtete Bacillen wuchsen langsamer und kümmerlicher. Vielleicht wegen des erheblich geringeren Sauerstoffvorraths.

²⁾ z. B. Bacillen in Mausemilz mit dem zwanzigfachen Quantum destillirten Wassers verdünnt, wuchsen nicht.

Il liquido, già dopo 24 ore, emette un odore di putrefazione che, dopo ulteriori 24 ore, solitamente è molto penetrante. In corrispondenza a ciò, ben presto, si trovano anche micrococchi e batteri in grosse quantità. Contemporaneamente però, il *bacillus anthracis* prospera talmente bene, come se fosse l'unico abitante del liquido nutritivo. I suoi fili raggiungono già dopo 24 ore una lunghezza considerevole e, dopo 48 ore, hanno spesso dato vita a spore in grande quantità⁷. Dopo lo sviluppo delle spore, i fili si disgregano e le spore affondano. La vegetazione degli schizofiti rimasti, che si sono insinuati casualmente nel liquido e lì si moltiplicarono, prosegue ancora per giorni rigogliosamente. Progressivamente anche questi ultimi spariscono, l'odore di putrefazione diminuisce e infine si forma un sedimento fangoso e, il liquido posto al di sopra, perde i componenti formati e diventa quasi chiara. Infine, ha un lieve odore di colla o formaggio, non si trasforma più, se nel frattempo è stata protetta dal prosciugamento con l'aggiunta di acqua distillata, ed è completamente imputridita.

Se le sostanze contenenti bacilli sono state diluite con acqua distillata o sorgiva, allora la formazione delle spore non viene impedita; ma, in presenza di una più forte diluizione, i bacilli non si formano più⁸, ben presto muoiono e, inoculati, dopo circa 30 ore non producono più il carbonchio. Il liquido nutritivo deve quindi contenere una quantità ben definita di Sali e proteine, in modo che i bacilli possano arrivare fino alla formazione delle spore.

Non c'è nessun dubbio che, la maggior parte dei cadaveri degli animali morti di carbonchio, i quali vengono raspati via profondamente durante l'estate, o che vengono lasciati per molto tempo sui campi e nelle stalle, e allo stesso tempo anche le fuoriuscite di sangue e bacilli dagli animali malati sul terreno umido o stallatico, diano le condizioni per la formazione delle spore del *Bacillus Anthracis*, altrettanto quanto nelle precedenti fila di esperimenti. Attraverso questi esperimenti, sarebbe fornita la prova che, le spore del *Bacillus Anthracis*, non risultano solamente in caso eccezionale dall'allevamento artificiale ma, che questo parassita, ogni estate all'interno del terreno, la cui umidità impedisce il prosciugamento del liquido nutritivo scorrente dalle cavità dell'animale ancora in vita o già morto, deposita i suoi germi in quantità incalcolabili.

⁷ Nelle celle di paraffina, nello stesso arco di tempo e nelle stesse condizioni, i bacilli crebbero più lentamente e stentatamente. Probabilmente a causa dell'esigua riserva di ossigeno.

⁸ Ad esempio, i bacilli della milza di topi, diluiti con una quantità di acqua distillata venti volte tale, non crebbero.

Humor aqueus und Blutserum wieder zu Bacillen heranwachsen, haben wir früher gesehen. Da liesse sich wohl schon von vornherein annehmen, dass, wenn von diesen Sporen auf irgend einem Wege eine oder auch mehrere in den Blutstrom eines für Milzbrand empfänglichen Thieres gelangt, hier eine neue Generation von Bacillen erzeugt wird. Um diese Annahme auch experimentell zu prüfen, wurden noch folgende Versuche angestellt.

Von zwei mit bacillenhaltigem Blutserum gefüllten, verdeckten Uhrgläsern blieb das eine im Zimmer, das andere wurde in einem kalten Raume (8°) aufbewahrt und von beiden täglich zwei Thiere geimpft. Im Blutserum, welches kalt stand, fingen die Bacillen am dritten Tage an körnig und gegliedert zu werden, bis dahin war es wirksam; die später damit geimpften Thiere blieben gesund. Die Impfungen mit dem warmstehenden Blutserum waren vor und nach der Sporenbildung in den Fäden des *Bacillus Anthracis* wirksam; selbst nach 14 Tagen liess sich mit solchem gefaulten Blute, welches Bacillen-Sporen enthält, noch mit derselben Sicherheit Milzbrand erzeugen, wie mit frischer stäbchenhaltiger Milz. Die Sporen scheinen sich sehr lange Zeit in faulenden Flüssigkeiten ebenso gut, wie in nicht faulenden, keimfähig zu erhalten. Denn mit Glaskörper von Rinderäugen, in welchem ich bei ungefähr 20° Bacillen aus einer Mausemilz zur Sporenbildung kommen liess und welcher nach drei Wochen vollständig ausgefault war, konnte noch nach eilf Wochen mit absoluter Sicherheit durch Impfung Milzbrand hervorgerufen werden. Der Bodensatz dieser ausgefaulten Flüssigkeit enthielt sehr viele von kleinen Schleimflocken zusammengehaltene Bacillen-Sporen, während man in der fast klaren Flüssigkeit bei mikroskopischer Untersuchung oft mehrere Gesichtsfelder durchsuchen musste, ehe man einige vereinzelt Sporen fand. Von Fäden war natürlich nicht das Geringste mehr vorhanden. Bei den Impfungen mit dem sporenen Bodensatz und mit der sporenen Flüssigkeit stellte sich die interessante Thatsache heraus, dass mit ersterem also mit vielen Sporen geimpfte Mäuse nach 24 Stunden, mit letzterer also mit weniger Sporen geimpfte Mäuse nach drei bis vier Tagen an Milzbrand starben. Ich bemerke noch besonders, dass ich diesen Versuch mehrere Male und immer mit demselben Erfolg wiederholt habe.

Sporenhaltige Flocken derselben Flüssigkeit wurden drei Wochen in einem mit Brunnenwasser gefüllten offenen Reagensglase aufbewahrt; trotzdem blieben dieselben wirksam bei der damit vorgenommenen Impfung.

Che questi germi non si modificano nell'acqua ma, che si riformano come bacilli nell' *Humor aqueus* e nel siero ematico, l'abbiamo già visto in precedenza. Lì si presupponeva già in partenza che, se di queste spore ne giunge una, o anche molteplici, nel flusso sanguigno di un animale sensibile al carbonchio, qui venga prodotta una nuova generazione di bacilli. Per analizzare questa ipotesi anche sperimentalmente, furono fatte le seguenti prove.

Su due vetri di orologi, riempiti con siero ematico e coperti, uno rimase in una camera, l'altro fu conservato in un ambiente freddo (8°) e, con entrambi, furono vaccinati quotidianamente due animali. Nel siero ematico che rimase al fresco, dopo il terzo giorno, i bacilli iniziarono a diventare granulosi e suddivisi, e fin qui fu efficace; gli animali che ne furono in seguito vaccinati rimasero sani. Le vaccinazioni con il siero ematico conservato al caldo furono efficaci sia prima che dopo la formazione delle spore nei fili del *Bacillus Anthracis*; persino dopo 14 giorni, con un tale sangue putrefatto contenente spore di bacilli, si è potuto procurare il carbonchio, con la stessa sicurezza della milza fresca contenente bastoncelli. Sembra che le spore si mantengano per lungo tempo altrettanto bene nei liquidi putrefatti, quanto in quelli non putrefatti. Poiché con il corpo vitreo degli occhi bovini, nel quale, a circa 20°, feci arrivare alla formazione delle spore dei bacilli di una milza di topo e il quale dopo 3 settimane fu completamente putrefatto, si poteva, in tutta sicurezza dopo 11 settimane, richiamare il carbonchio tramite vaccinazione. Il sedimento di questo liquido putrefatto conteneva molti bacilli e spore, tenuti insieme da piccoli fiocchi di muco mentre, durante un'analisi microscopica, nel liquido quasi chiaro si dovettero ricercare spesso numerosi campi visivi, prima di riuscire a trovare alcune spore sparse. Dei fili non c'era nemmeno più l'ombra. Durante le vaccinazioni con il sedimento ricco di spore e con il liquido povero di spore si giunse al fatto interessante che, i topi vaccinati con il primo, ovvero con molte spore, morirono di carbonchio dopo 24 ore, col secondo, ovvero con poche spore, morirono dopo due o tre giorni. Puntualizzo inoltre particolarmente che, ho ripetuto questo esperimento tantissime volte, giungendo sempre allo stesso risultato.

Ebensolche sporenhaltige Substanzen wurden getrocknet, nach einiger Zeit mit Wasser wieder aufgeweicht und dieser Procedur wiederholt unterworfen; aber sie verloren ihre Fähigkeit Milzbrand zu erzeugen, dadurch nicht.

Hiernach wird es nun auch leicht erklärlich, warum die Meinungen der Experimentatoren über die Wirksamkeit des getrockneten Milzbrandblutes so weit auseinandergehen; da der Eine frisches, schnell getrocknetes Blut benutzte, welches keine Sporen enthielt und, wie ich früher gezeigt habe, sich höchstens fünf Wochen wirksam erhält; von Anderen dagegen wurde mit Blut geimpft, das langsam bei Zimmer- oder Sommer-Temperatur eingetrocknet war und in welchem sich Sporen gebildet hatten. Ich besitze eine kleine Sammlung von Milzbrandsubstanzen, welche unter den verschiedensten Umständen und zu verschiedenen Zeiten getrocknet und in unverstöpkelten, enghalsigen Gläsern aufbewahrt sind. Als ich auf die Bedeutung der Sporen in getrockneten Milzbrandmassen aufmerksam wurde, untersuchte ich diese getrockneten Blut-, Milz- und Drüsenstückchen nochmals genau auf ihre Fähigkeit, mit *Humor aqueus* aufgeweicht in Glaszellen die charakteristischen sporenhaltigen Fäden des *Bacillus Anthracis* und bei der Impfung Milzbrand entstehen zu lassen. Hierbei stellte sich heraus, dass die in kleinen Stücken schnell getrockneten Theile keine Sporen enthielten und weder Fäden noch Milzbrand hervorzubringen vermochten. Schafmilz dagegen, welche in grösseren Stücken im Zimmer langsam getrocknet war, und einige Blutproben, welche in grösseren Quantitäten aufgestellt gewesen waren und mehrere Tage zum vollständigen Eintrocknen gebraucht hatten, enthielten zahlreiche mehr oder weniger freie Sporen und Bruchstücke von sporenhaltigen Fäden. Alle diese sporenhaltigen Substanzen riefen nach der Einimpfung Milzbrand hervor und entwickelten in Nährflüssigkeiten oft die schönsten sporenhaltigen Fäden von *Bacillus Anthracis*. Wie lange sich die getrockneten Sporen keimfähig halten, lässt sich zur Zeit nicht mit Bestimmtheit angeben; wahrscheinlich wird dieser Zeitraum eine längere Reihe von Jahren umfassen; wenigstens habe ich mit Schafblut, welches vor fast vier Jahren getrocknet ist, noch in letzter Zeit vielfach Impfungen ausgeführt, welche ausnahmslos tödtlichen Milzbrand bewirkten ¹⁾.

Mehrfach ist die Identität der durch Impfungen mit Milzbrandblut hervorgerufenen Krankheit mit Septicämie und ebenso das um-

¹⁾ Die beim Bearbeiten von Häuten, Haaren und dergl. entstandenen Milzbranderkrankungen bei Menschen, können, wenn diese Gegenstände schon vor Jahren getrocknet sind, nur durch sporenhaltige Staubtheile veranlasst sein.

Dei fiocchi dello stesso liquido, contenenti spore, furono conservati tre settimane in un bicchiere reagente aperto, riempito di acqua minerale; questi però rimasero lo stesso efficaci durante la vaccinazione intrapresa.

Anche altre di queste sostanze contenenti spore furono asciugate, dopo un po' di tempo nuovamente ammorbidite con acqua e sottoposte ripetutamente a questa procedura; ma non persero la capacità di procurare il carbonchio.

Dopo ciò diventa facilmente spiegabile perché le opinioni degli sperimentatori, riguardo all'efficacia del sangue di carbonchio asciutto, differiscano così tanto; alcuni utilizzarono sangue fresco, asciugato velocemente, che non conteneva nessuna spora e che, come dimostrai precedentemente, si mantiene efficace al massimo per cinque settimane; altri effettuarono i vaccini con sangue fatto asciugare a temperatura ambiente o estiva, nel quale si furono formate le spore. Possiedo una piccola collezione di sostanze di carbonchio, fatte asciugare in diverse condizioni e in differenti tempi, e conservate in contenitori di vetro stappati e dal collo stretto. Quando mi accorsi del significato delle spore nelle masse di carbonchio asciutte, esaminai ancora una volta questi pezzetti asciutti di sangue, milza e ghiandola per quanto riguarda la loro capacità di procurare, ammorbiditi con *Humor aqueus* in celle di vetro, i caratteristici fili del *Bacillus Anthracis* e, durante la vaccinazione, il carbonchio. Ne risultò che, le parti asciugate velocemente in piccoli pezzi, non contenevano alcuna spora e non furono in grado di generare né fili tanto meno carbonchio. Al contrario, la milza di pecora, che fu fatta asciugare lentamente in parti più grandi a temperatura ambiente, e alcuni prelievi di sangue, i quali furono disposti in quantità maggiori e che necessitarono di più giorni fino a completo asciugamento, contenevano numerose spore, più o meno libere, e frammenti di fili contenenti spore. Tutte queste sostanze contenenti spore, in seguito alla vaccinazione, richiamarono il carbonchio e svilupparono nei

liquidi nutritivi spesso i più bei fili di *Bacillus Anthracis* contenenti spore. Per quanto tempo le spore asciutte si mantengano in grado di germogliare, non può essere indicato per ora con esattezza; probabilmente, questo lasso di tempo ricoprirà una serie di anni; perlomeno con il sangue di pecora, asciugato da almeno quattro anni, ho condotto nell'ultimo periodo numerose vaccinazioni, le quali procurarono, senza esclusione, carbonchio mortale⁹.

⁹ Le malattie di carbonchio nell'uomo, sviluppatasi dalla lavorazione di pelli, capelli e simili, possono essere indotte, se questi elementi sono asciutti ormai già da anni, solamente dalle parti di polvere contenenti spore.

gekehrte Verhältniss behauptet worden. Um diesen Einwand, der möglicherweise auch meinen mit faulenden Milzbrandsubstanzen angestellten Impfversuchen gemacht werden könnte, zu begegnen, habe ich mit faulendem Blute von gesunden Thieren mit bacillenfreiem faulenden *Humor aqueus* und Glaskörper Mäuse mehrfach geimpft. Dieselben blieben fast immer gesund, nur zwei Mäuse starben von zwölf geimpften, und zwar einige Tage nach der Impfung; sie hatten vergrösserte Milz, aber diese sowohl wie das Blut waren vollständig frei von Bacillen. Ferner wurden Thiere mit faulendem Glaskörper geimpft, in welchem sich eine dem *Bacillus Anthracis* sehr ähnliche Bacillusart spontan entwickelt hatte. Die Sporen der beiden Bacillusarten waren weder in Grösse noch sonstigem Aussehen von einander zu unterscheiden; nur die Fäden des Glaskörper-Bacillus waren kürzer und deutlich gegliedert. Alle Impfungen mit diesen mehrmals von mir auf Glaskörper gefundenen Bacillen und mit ihren Sporen vermochten keinen Milzbrand zu erzeugen. Auch solche Thiere, welche mit Sporen der im Heu-Infus von Prof. F. Cohn gezüchteten Bacillen geimpft wurden, blieben gesund. Dagegen habe ich mehrfach mit Sporenmassen, welche in Glaszellen gezüchtet waren und wie ich mich vorher durch mikroskopische Untersuchungen versicherte, aus ganz reinen Culturen von *Bacillus Anthracis* stammten, geimpft und jedesmal starben die geimpften Thiere an Milzbrand. Es folgt hieraus, dass nur eine Bacillusart im Stande ist, diesen specifischen Krankheitsprocess zu veranlassen, während andere Schizophyten durch Impfung gar nicht oder in anderer Weise krankheitserregend wirken. Es könnte auffallend erscheinen, dass von meinen mit faulendem Blute geimpften Versuchsthieren nur ausnahmsweise eins an Septicämie zu Grunde ging; dem gegenüber bemerke ich, dass ich nicht, wie es gewöhnlich üblich ist, das faulende Blut nach Cubikcentimetern einspritzte, sondern nur eine verschwindend kleine Menge desselben dem Körper des Thieres einimpfte und damit natürlich die Wahrscheinlichkeit, die im Blute vielleicht sparsam vorhandenen septisch wirkenden Formelemente in den Blutstrom zu bringen, sehr verringert wird.

Dass die Sporen des *Bacillus Anthracis* Milzbrand hervorrufen, wenn sie direkt in den Säftestrom des Thierkörpers gebracht werden, ist durch die zuletzt besprochenen Versuche wohl hinreichend bewiesen. Die Sporen müssen also wirksam werden, sobald sie in getrocknetem Zustande als Staubpartikelchen oder in Flüssigkeiten suspendirt auf Wunden, wenn diese auch noch so klein sind, gelangen. Man dürfte wohl kaum eines unsrer Hausthiere finden, dessen Haut

L'identità delle malattie causate dalle vaccinazioni con sangue di carbonchio è stata sostenuta ripetutamente come setticemia e, allo stesso modo, anche la situazione inversa. Per ovviare questa obiezione, che potrebbe essere sollevata anche contro i miei esperimenti di vaccinazione con sostanze di carbonchio putrefatte, ho ripetutamente vaccinato dei topi con sangue putrefatto di animali sani, con *Humor aqueus* putrefatto, privo di bacilli, e corpi vitrei. Questi rimasero quasi sempre sani, solo due topi, su dodici vaccinati, morirono alcuni giorni dopo la vaccinazione; avevano la milza ingrossata, ma quest'ultima, così come il sangue, fu completamente priva di bacilli. In seguito furono vaccinati alcuni animali con corpi vitrei putrefatti, nei quali si fu sviluppato, del tutto spontaneamente, un tipo di bacillo simile al *Bacillus Anthracis*. Le spore di entrambe le tipologie di bacilli si distinguevano tra di loro sia per grandezza che per il resto dell'aspetto; solo i fili del bacillo a corpo vitreo furono più corti e ben suddivisi. Tutte le vaccinazioni con questi bacilli e le loro spore non furono in grado di generare carbonchio. Anche quegli animali, vaccinati con le spore dei bacilli coltivati da Prof. F. Cohn nel fieno, rimasero sani. Per contro, ho vaccinato ripetutamente animali con masse di spore, coltivate in celle di vetro e, come ebbi modo di accertare in precedenza con analisi microscopiche, provenienti da colture del tutto pure di *Bacillus Anthracis*, e ogni volta questi animali vaccinati morirono di carbonchio. Ne risulta che, solamente una tipologia di bacilli sia in grado di indurre questo specifico processo di malattia, mentre altri schizofiti, con la vaccinazione, non producono effetto reagente ai fini della malattia.

nicht mit einigen Kratzwunden oder kleinen durch Scheuern, Reiben und dergl. entstandenen Hautabschürfungen versehen ist und damit dem gefährlichen Schmarotzer einen bequemen Eingang darbietet. Trotzdem ist damit noch nicht gesagt, dass die Milzbrandsporen nur auf diesem Wege einzuwandern vermögen. Es müssen, um die Milzbrandätiologie vollständig zu haben, auch die Verdauungswege und die Respirationsorgane auf ihre Resorptionsfähigkeit für Milzbrandbacillen und deren Sporen untersucht werden.

Um zu sehen, ob das Milzbrandcontagium vom Verdauungskanal aus in den Körper eindringen kann, habe ich zuert Mäuse mehrere Tage lang mit frischer Milz von Kaninchen und vom Schaf, welche an Milzbrand gestorben waren, gefüttert. Mäuse sind ausserordentlich gefräßig und nehmen in kurzer Zeit mehr als ihr Körpergewicht beträgt, an milzbrandigen Massen auf, so dass also ganz erhebliche Mengen von Bacillen den Magen und Darm der Versuchsthiere passirten. Aber es gelang mir nicht, dieselben auf diese Weise zu inficiren. Dann mengte ich den Thieren sporenhaltige Flüssigkeit unter das Futter; auch das frassen sie ohne jeden Nachtheil; auch durch Fütterung grösserer Mengen von sporenhaltigem, kurz vorher oder schon vor Jahren getrocknetem Blute konnte kein Milzbrand bei ihnen erzeugt werden. Kaninchen, welche zu verschiedenen Zeiten mit sporenhaltigen Massen gefüttert wurden, blieben ebenfalls gesund. Für diese beiden Thierspecies scheint demnach eine Infection vom Darmkanal aus nicht möglich zu sein.

Ueber das Verhalten der mit Staub in die Athmungsorgane gelangten Sporen vermag ich bis jetzt nichts anzugeben, da es mir noch nicht möglich war, darauf bezügliche Versuche anzustellen.

Ich schliesse hier noch einige Versuchsreihen und Beobachtungen an, welche nicht direct mit der Aetiologie des Milzbrandes in Verbindung stehen, aber doch Interesse genug bieten, um mitgetheilt zu werden.

Den schon von Brauell gemachten Versuch, sowohl mit dem bacillenhaltigen Blute trächtiger Thiere, als mit dem bacillenfreien Blute des Fötus derselben zu impfen, habe ich mit einem trächtigen Meerschweinchen und zwei trächtigen Mäusen wiederholt. Das Resultat war das nämliche, wie bei dem Experiment von Brauell; die mit dem mütterlichen Blute geimpften Thiere starben an Milzbrand, die mit dem fötalen Blute geimpften blieben gesund. Um zu sehen, wie bald nach der Impfung die ersten Bacillen im Blute oder in der Milz der geimpften Thiere sich einfinden, wurden neun Mäuse zu gleicher Zeit geimpft. Nach zwei, vier, sechs, acht, zehn, zwölf,

Potrebbe apparire sorprendente che, tra le mie cavie vaccinate con sangue putrefatto, ne morì eccezionalmente solo una di setticemia; a tal riguardo faccio presente che, non iniettai, come mio solito, il sangue putrefatto secondo centimetri cubici, bensì una quantità estremamente piccola nel corpo dell'animale, riducendo così la probabilità di portare nel flusso sanguigno gli elementi di forma, ad effetto setticemico, conservatisi parsimoniosamente nel sangue.

Il fatto che le spore del *Bacillus Anthracis* richiamino il carbonchio, quando vengono immesse direttamente nel flusso del corpo dell'animale, è stato ampiamente dimostrato dagli esperimenti poco fa discussi. Quindi, le spore devono diventare efficaci, non appena finiscono, in condizioni asciutte, sotto forma di particelle di polvere o sospese in liquidi, sopra le ferite ancora molto piccole. Difficilmente si trova uno dei nostri animali domestici la cui pelle non sia dotata di ferite da graffio o piccoli affinamenti dovuti a strofinamenti, e offrono così al pericoloso parassita una comoda via di accesso. Tuttavia non è detto che, le spore di carbonchio possano accedere solo tramite questa via. Per avere al completo l'eziologia del carbonchio, bisogna analizzare anche i canali digerenti e gli organi respiratori, riguardo alla loro capacità di assorbimento dei bacilli di carbonchio e delle loro spore.

Per vedere se il contagio del carbonchio può avvenire dal canale digerente direttamente nel corpo, inizialmente ho nutrito, per molti giorni, dei topi con milza fresca di conigli e pecore morte di carbonchio. I topi sono particolarmente voraci e assumono, in breve tempo, masse contenenti carbonchio in quantità maggiori, di quanto sopporti il loro peso corporeo, in modo che delle grandi quantità di bacilli attraversino lo stomaco e l'intestino delle cavie. Ma non mi riuscì di infettarli in questo modo. Allora amalgamai nel cibo degli animali del liquido contenente spore; anche stavolta lo divorarono senza alcuna conseguenza; nemmeno dandogli in cibo grandi quantità di sangue ricco di spore e fatto asciugare precedentemente, o asciutto ormai da anni, non fu possibile procurargli il carbonchio. Anche i conigli, alimentati in diversi periodi con masse contenenti spore, rimasero a loro volta sani. Per queste due specie di animali sembra non sia possibile che si verifichi un'infezione a partire dal canale intestinale.

Sulla reazione delle spore finite negli organi respiratori attraverso la polvere, non posso per ora asserire nulla dato che, a tal riguardo, non mi fu ancora possibile fare i relativi esperimenti.

Aggiungo qui ancora alcune fila di esperimenti e osservazioni, che non stanno in diretto collegamento con l'eziologia del carbonchio ma, che offrono un interesse sufficiente, tale da essere comunicati.

Il tentativo già condotto da Brauell, di vaccinare sia con il sangue contenente bacilli degli animali gravidi, sia con il sangue privo di bacilli del feto, l'ho ripetuto sia con porcellino d'india gravido che con due topi gravidi. Il risultato fu lo stesso ottenuto anche da Brauell; gli animali vaccinati con il sangue materno morirono di carbonchio, quelli vaccinati con il sangue fetale rimasero sani. Per vedere in quanto tempo, dopo la vaccinazione, si presentano i primi bacilli nel sangue o nella milza degli animali vaccinati, furono vaccinati contemporaneamente nove topi. Dopo due, quattro, sei, otto, dieci, dodici, quattordici e sedici ore fu, ogni volta, ucciso uno di questi topi con il cloroformio e il sangue fu immediatamente analizzato come la milza.

vierzehn und sechszehn Stunden wurde jedesmal eine dieser Mäuse durch Chloroform getödtet und Blut sowohl als Milz sofort untersucht. In den sechs ersten Thieren wurden keine Bacillen gefunden. Erst in der Milz der vierzehn Stunden nach der Impfung getödteten Maus zeigten sich vereinzelte Bacillen. Bei der Maus, welche sechszehn Stunden gelebt hatte, fanden sich schon mehr Bacillen und die Milz war vergrössert. Die letzte starb nach siebzehn Stunden unter den gewöhnlichen charakteristischen Symptomen; ihre Milz war erheblich vergrössert und vollgestopft mit dichten Bacillenmassen. Das Eindringen der Bacillen in den Blutstrom scheint also langsam vor sich zu gehen, aber wenn sie erst einmal hineingelangt sind und hier in ihrer eigentlichen Heimath festen Fuss gefasst haben, vermehren sie sich in der üppigsten Weise.

Ausser an Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen habe ich Impfversuche an zwei Hunden, einem Rebhuhn und einem Sperling gemacht. Obwohl ich diese Thiere wiederholt mit ganz frischem Material impfte, so ist es mir doch nicht gelungen, sie mit Milzbrand zu inficiren.

Auch Frösche sind ganz unempfänglich für Impfungen mit *Bacillus Anthracis* oder dessen Sporen. Als ich einigen Fröschen grössere Stücke Milz von an Milzbrand gestorbenen Mäusen unter die Rückenhaut brachte, die Thiere nach 48 Stunden tödtete und untersuchte, stellte sich folgender bemerkenswerthe Befund heraus. Das Blut der Frösche war vollkommen frei von Bacillen. Die Mausemilz war mit ihrer Umgebung leicht verklebt und hatte statt ihrer dunkelbraunrothen Farbe eine mehr hellgraurothe angenommen. Bei der mikroskopischen Untersuchung derselben finden sich in der Mitte noch unveränderte Bacillen in grosser Menge, aber in den äusseren Schichten trifft man auf viele Bacillen, welche dicker geworden sind und sich verlängert haben, und zwischen diesen sieht man eigenthümliche Gebilde in grosser Zahl; nämlich mehr oder weniger regelmässig spiralförmig gewundene Bacillen, welche theils frei sind, theils aber auch von einer sehr dünnwandigen Kapsel eingeschlossen werden. Die Erklärung für diese ungewöhnliche Gestaltung der Bacillen ist leicht zu finden, wenn man die fast gallertartige, anscheinend von der Froschhaut ausgeschiedene äusserste Umhüllungsschicht der Milz untersucht (Fig. 7). Diese Schicht besteht aus grossen, in eine strukturlose zähflüssige Grundsubstanz eingebetteten Zellen, welche fast die Grösse der Froschblutkörperchen erreichen (Fig. 7a). Dieselben sind trotz ihrer Grösse sehr blass und zart, haben einen sehr deutlichen Kern mit Kernkörperchen und enthalten viele sehr kleine,

Nei primi sei animali non fu trovato alcun bacillo. Solamente nella milza del topo ucciso dopo quattordici dalla vaccinazione, fu trovato qualche bacillo sparso. Nel topo, che visse ben sedici ore, si trovarono numerosi bacilli e la milza fu ingrossata. L'ultimo topo morì dopo diciassette ore con i sintomi caratteristici; la sua milza fu notevolmente ingrossata e invasa da fitte masse di bacilli. L'entrata dei bacilli nel flusso sanguigno pare avvenga lentamente ma, non appena giungono all'interno e prendono dimora fissa, si moltiplicano in maniera molto rigogliosa.

Oltre che sui topi, conigli e porcellini d'india, ho fatto degli esperimenti anche su due cani, una pernice e un passero. Nonostante abbia ripetutamente vaccinato questi animali con del materiale totalmente fresco, non mi riuscì di infettarli con il carbonchio.

Anche le rane sono completamente insensibili alle vaccinazioni con il *Bacillus Anthracis* o le sue spore. Quando misi dei grossi pezzi di milza, provenienti da topi morti di carbonchio, nella pelle della schiena delle rane, le uccisi dopo 48 ore e le analizzai, ne risultò la seguente diagnosi. Il sangue delle rane fu completamente privo di bacilli. La milza di topo fu leggermente incollata alla parte circostante e aveva assunto, anziché il suo colorito marrone scuro-rosso, un colore tendente al grigio chiaro-rosso. Durante l'analisi microscopica della stessa milza, al centro si trovarono ancora dei bacilli invariati in grandi quantità ma, negli strati laterali, si incontrarono numerosi bacilli che si sono ingrossati e allungati e, tra questi, si videro numerose strutturazioni bizzarre; cioè, bacilli contorti a forma di spirale, più o meno regolari che, in parte, sono liberi e in parte vengono avvolti da una capsula dalle pareti sottili. La spiegazione a questa strana forma dei bacilli la si trova facilmente se si analizza lo strato esterno, quasi gelatinoso, di copertura della milza (fig. 7). Questo strato è composto da grosse cellule, collocate all'interno di una sostanza di base densa e priva di struttura, le quali raggiungono quasi le dimensioni dei globuli della rana (fig. 7a). Questi ultimi sono, nonostante la loro grandezza, molto pallidi e delicati, hanno un nucleo ben evidente e contengono numerosi, piccoli granelli, in un vivace movimento molecolare.

in lebhaftester Molekularbewegung befindliche Körnchen. In den meisten von diesen Zellen nun befinden sich einzelne oder mehrere kurze gerade Bacillen, in anderen etwas gekrümmte, geknickte, zu Haufen und Bündeln vereinigte und vorzugsweise spiralförmig gedrehte Bacillen (Fig. 7 b). Sobald die Zellen mehrere Bacillen beherbergen, erscheinen die Molekularkörnchen in ihnen vergrößert, nimmt aber die Bacillenwucherung in ihnen überhand, dann verschwinden diese Körnchen und zuletzt auch der noch am längsten zu erkennende Kern. Dass die als kurze Stäbchen von den Zellen aufgenommenen Bacillen in diesen wachsen und, nachdem sie das Innere derselben unter Bildung von verschiedenen Knickungen und Krümmungen ausgefüllt haben, schliesslich sprengen, geht daraus hervor, dass man neben den freigewordenen Bacillen-Spiralen (Fig. 7 g) und -Bündeln zusammengefallene und leere Zellmembranen als letzten Rest der zerstörten Zellen findet (Fig. 7 c)¹⁾.

Ganz besonders schön sind diese bacillenhaltigen Zellen zu sehen, wenn dem Präparat etwas destillirtes Wasser zugesetzt wird. Die Zellen quellen dadurch etwas auf, ihr Inhalt wird deutlicher und wenn sie durch die Flüssigkeitsströmungen fortgerissen in eine rollende Bewegung versetzt werden, kann man sich leicht die Ueberzeugung verschaffen, dass auch einzelne Bacillen wirklich im Innern der Zelle und zwar gewöhnlich dicht neben dem Kern liegen und nicht etwa nur in die weiche Zellen-Oberfläche eingedrückt sind. Man hat schon vielfach die Vermuthung ausgesprochen, dass die amöboiden Zellen des Thierkörpers, also vor Allem die weissen Blutkörperchen in derselben Weise, wie sie den leicht nachweisbaren künstlich ins Blut eingeführten Farbekörnchen den Eingang in ihr Protoplasma gestatten, so auch die in die Blutbahn eingedrungenen Micrococcen aufzunehmen vermögen. So viel ich weiss, ist es jedoch bis jetzt nicht gelungen, die weder durch ihre Form noch durch ihre Reactionen von den Molekularkörnchen dieser Zellen scharf unterschiedenen Micrococcen als solche mit Bestimmtheit nachzuweisen. Auch scheint bis jetzt überhaupt kein vollkommen sicheres Beispiel für das Vorkommen von schizophytenhaltigen lebenden thierischen Zellen bekannt zu sein, und ich habe deswegen von den vorhin beschriebenen Zellen in

¹⁾ Zu mehr als mittlerer Länge wachsen die Fäden unter der Froschhaut nicht aus, ich habe auch niemals Sporenentwicklung in denselben gesehen. Nach mehreren Tagen wird ihre Zahl geringer, sie scheinen allmählich zu zerfallen, doch habe ich bei einem Frosche zehn Tage nach Transplantation der Mausemilz noch lange Fäden und bacillenhaltige Zellen gefunden.

Nella maggior parte di queste cellule si trovano bacilli corti e dritti, singoli, o in quantità maggiori, in altre invece, dei bacilli curvati, piegati, riuniti in mucchietti e tendenzialmente girati a forma di spirale (fig. 7b). Non appena le cellule racchiudono numerosi bacilli, i granelli molecolari al loro interno appaiono ingrossati, la proliferazione dei bacilli aumenta però a dismisura, poi questi granelli spariscono e infine anche il nucleo, riconoscibile per maggior tempo. Che i bacilli contenuti in queste cellule crescano e, dopo aver riempito il loro interno a causa della formazione di diverse pieghe e curvature, esplodano dipende dal fatto che, accanto alle spirali e ai mucchietti di bacilli liberatisi (fig. 7 g), si trovano membrane rovinata e vuote di cellule come ultimo residuo delle cellule distrutte (fig. 7c)¹⁰. Queste cellule contenenti bacilli sono particolarmente belle da vedere se, al preparato, viene aggiunta un po' di acqua distillata. In questo modo, le cellule traboccano leggermente, il loro contenuto diventa più evidente e se, con le correnti del liquido, vengono strappate e spostate in un movimento roteante, ci si può facilmente convincere sul fatto che, anche i singoli bacilli siano veramente situati all'interno delle cellule, e cioè particolarmente vicini al nucleo, e che non sono solamente schiacciati all'interno della superficie morbida delle cellule. E' stata già più volte pronunciata l'ipotesi che, le cellule AMÖBOID del corpo animale, cioè soprattutto i globuli bianchi, nello stesso modo in cui permettono l'accesso nel loro protoplasma ai granelli colorati, introdotti artificialmente nel sangue, possano accogliere anche i micrococchi introdottisi nel canale sanguigno. Per quanto ne sappia, fino ad ora non si è mai riusciti a documentare con esattezza i micrococchi come tali, fortemente differenti a causa della forma e delle reazioni dei granelli molecolari di queste cellule. Inoltre pare non sia conosciuto alcun esempio sicuro sulla comparsa di cellule animali viventi, contenenti schizofiti, e perciò ho fornito una illustrazione, delle cellule precedentemente descritte, nella fig. 7.

¹⁰ I fili sotto la pelle delle rane non crescono più della metà della loro lunghezza e non vi ho mai osservato nemmeno la formazione delle spore. Dopo molti giorni il loro numero diminuisce, sembra che lentamente si disintegrino, eppure ho trovato in una rana, dopo dieci giorni dal trapianto della milza di topo, ancora lunghi fili e celle contenenti bacilli.

Fig. 7 eine Abbildung gegeben. Diese Beobachtung steht in sofern nicht vereinzelt, als ich bei andern Fröschen, nachdem faules getrocknetes Blut unter die Rückenhaut gebracht war, dieselben Zellen gefunden habe; aber in diesem Falle enthielten sie ganz andere kurzgliederige Bacillen, welche meistens mit einer Dauerspore versehen waren (Billroth's Helobacterien). Auch in der frisch untersuchten Milz eines an Milzbrand gefallenen Pferdes (die einzige, welche ich zu untersuchen Gelegenheit hatte) waren neben sehr zahlreichen freien Stäbchen grosse blasse Zellen, meistens mit mehreren Kernen vorhanden, von denen viele eine, bis zehn und mehr Bacillen enthielten.

IV. Aetiologie des Milzbrandes. Werfen wir nun einen Blick zurück auf die bis jetzt gewonnenen Thatsachen und versuchen wir mit ihrer Hilfe die Aetiologie des Milzbrandes festzustellen, so dürfen wir uns nicht verhehlen, dass zur Construction einer lückenlosen Aetiologie noch Manches fehlt. Vor Allem ist nicht zu vergessen, dass sämtliche Thierexperimente an kleinen Nagethieren angestellt sind. Es ist allerdings unwahrscheinlich, dass die Wiederkäuer, die eigentlichen Wohnthiere des uns beschäftigenden Parasiten, sich diesem gegenüber sehr verschieden von Nagethieren verhalten sollten. Aber schon bei den Impfversuchen besteht in sofern ein Unterschied, dass kleine Thiere nach 24—30 Stunden, grosse erst nach mehreren Tagen sterben. Könnten nicht vielleicht während dieser längeren Zeit die Bacillen an irgend einer Stelle des thierischen Körpers zur Sporenbildung kommen? Oder gelangen sie überhaupt niemals im lebenden Körper zur Ansetzung von Sporen? Ferner sind die Fütterungsversuche mit Bacillen und Sporen bei Nagethieren mit ihrem negativen Resultat durchaus nicht massgebend für Wiederkäuer, deren ganzer Verdauungsprozess doch wesentlich anders ist. Einathmungsversuche mit sporenhaltigen Massen fehlen noch ganz. Auch sind Versuche über das Verhalten grösserer Milzbrandcadaver bei verschiedenen Temperaturen, in verschiedenen Bodentiefen und Bodenarten (Thon-, Kalk-, Sandboden, trockener Boden, feuchter Boden, Einfluss des Grundwassers) in Bezug auf die Sporenbildung der Bacillen noch nicht gemacht und es würde doch von höchstem praktischem Werth sein, gerade hierüber sichere Kenntniss zu erlangen. Noch eine Menge Einzelheiten über das Verhalten der Bacillen und ihrer Sporen gegen zerstörende oder ihre Entwicklung hindernde Stoffe, über den Vorgang ihrer Einwanderung in die Blut- und Lymphgefässe müssten erforscht werden. Wenn aber auch noch manche Frage über diesen bisher so räthselhaften Parasiten zu lösen

Questa osservazione può apparire isolata se non fosse che, ho trovato le stesse cellule in altre rane, dopo che fu introdotto del sangue putrefatto sotto la pelle della schiena; ma, in questo caso, contenevano dei bacilli a struttura piccola, totalmente diversi, dotati spesso di una spora duratura (*Helobatteri* di Billroth). Anche con l'analisi della milza di un cavallo morto di carbonchio (l'unica che ho avuto modo di analizzare), furono presenti, accanto a numerosi bastoncelli liberi, delle grandi cellule pallide, dotate il più delle volte di più di un nucleo, dei quali molti contenevano da uno a dieci, e più, bacilli.

IV. Eziologia del carbonchio. Diamo ora uno sguardo indietro ai fatti fino ad ora dimostrati e cerchiamo, con il loro aiuto, di stabilire l'eziologia del carbonchio, ma non dobbiamo nascondere che, per la costruzione di un'eziologia completa, manca ancora parecchio. Soprattutto non è da dimenticare che, tutti questi esperimenti sugli animali sono stati condotti su roditori. E' tuttavia improbabile che, i ruminanti, cioè i veri animali in cui dimora il parassita di cui ci occupiamo, si possa comportare nei confronti di quest'ultimo in maniera differente dei roditori. Ma, già dai tentativi di vaccinazione, si nota tuttavia una differenza nel fatto che, gli animali piccoli muoiono dopo circa 24-30 ore, mentre quelli grandi dopo parecchi giorni. In tutto questo lasso di tempo, i parassiti non potrebbero forse giungere alla formazione delle spore in qualunque parte del corpo animale? Inoltre, gli esperimenti di nutrizione con bacilli e spore nei roditori non sono, a causa del loro risultato negativo, determinanti per i ruminanti, il cui intero processo digestivo è completamente differente. Esperimenti di inalazione con masse contenenti spore mancano ancora totalmente. Non sono stati ancora condotti nemmeno gli esperimenti sul rapporto di cadaveri di dimensioni maggiori, morti da carbonchio, sotto diverse temperature, in diverse profondità e tipologie del terreno (argilloso, calcareo, sabbioso, asciutto, umido, influsso di falde acquifere), rispetto alla formazione delle spore dei bacilli e sarebbe di un'enorme utilità pratica ricavare da questo delle conoscenze precise. Dovrebbero essere sperimentate ancora una serie di particolari sul rapporto dei bacilli e delle loro spore nei confronti delle sostanze, che disturbano o modificano il loro sviluppo, e sul loro processo di immigrazione nei vasi sanguigni e linfatici. Ma, se da una parte ci sono ancora così tante domande da risolvere riguardo a questo parassita così enigmatico, dall'altra il suo percorso di vita è posto in maniera così aperta davanti a noi, da poter essere in grado di stabilire con la massima sicurezza, almeno nei fondamenti, l'eziologia della malattia da lui indotta.

ist, so liegt sein Lebensweg jetzt doch so weit vor uns offen, dass wir die Aetiologie der von ihm veranlassten Krankheit wenigstens in den Grundzügen mit voller Sicherheit feststellen können.

Vor der Thatsache, dass Milzbrandsubstanzen, gleichviel ob sie verhältnissmässig frisch oder ausgefault oder getrocknet und Jahre alt sind, nur dann Milzbrand zu erzeugen vermögen, wenn sie entwicklungsfähige Bacillen oder Sporen des *Bacillus Anthracis* enthalten, vor dieser Thatsache müssen alle Zweifel ob der *Bacillus Anthracis* wirklich die eigentliche Ursache und das Contagium des Milzbrandes bildet, verstummen. Die Uebertragung der Krankheit durch feuchte Bacillen im ganz frischen Blut kommt in der Natur wohl nur selten vor, am leichtesten noch bei Menschen, denen beim Schlachten, Zerlegen, Abhäuten von milzbrandigen Thieren Blut oder Gewebssaft in Wunden gelangt. Häufiger wird wahrscheinlich die Krankheit durch getrocknete Bacillen veranlasst, welche, wie nachgewiesen wurde, ihre Wirksamkeit einige Tage, im günstigsten Falle gegen fünf Wochen erhalten können. Durch Insekten, an Wolle und dergleichen haftend, namentlich mit dem Staub, können sie auf Wunden gelangen und dann die Krankheit hervorrufen. Bacillenhaltige Massen, welche in Wasser gelangen und dort stark verdünnt werden, verlieren sehr bald ihre Wirksamkeit und tragen zur Verbreitung des Milzbrandes wahrscheinlich nur ausnahmsweise bei.

Die eigentliche Masse der Erkrankungen aber, welche fast immer unter solchen Verhältnissen eintritt, dass die eben genannten Uebertragungsweisen ausgeschlossen werden müssen, kann nur durch die Einwanderung von Sporen des *Bacillus Anthracis* in den Thierkörper verursacht werden. Denn die Bacillen selbst können sich in dauernd trockenem Zustande nur kurze Zeit lebensfähig erhalten und vermögen deswegen sich weder im feuchten Boden zu halten, noch den wechselnden Witterungsverhältnissen (Niederschlägen, Thau) Widerstand zu leisten, während die Sporen dagegen in kaum glaublicher Art und Weise ausdauern. Weder jahrelange Trockenheit, noch monatelanger Aufenthalt in faulender Flüssigkeit, noch wiederholtes Eintrocknen und Anfeuchten vermag ihre Keimfähigkeit zu stören. Wenn sich diese Sporen erst einmal gebildet haben, dann ist hinreichend dafür gesorgt, dass der Milzbrand auf lange Zeit in einer Gegend nicht erlischt. Dass aber die Möglichkeit zu ihrem Entstehen oft genug gegeben ist, wurde früher schon hervorgehoben. Ein einziger Cadaver, welcher unzweckmässig behandelt wird, kann fast unzählige Sporen liefern und wenn auch Millionen von diesen Sporen schliesslich zu Grunde gehen ohne zur Keimung im Blute

Davanti al fatto che, le sostanze di carbonchio, indipendentemente che siano relativamente fresche, putrefatte o asciutte e abbiano molti anni, provochino il carbonchio solamente quando contengono bacilli o spore del *Bacillus Anthracis* in grado di svilupparsi, davanti a questo fatto devono cessare tutti i dubbi sul fatto se, il *Bacillus Anthracis* rappresenti veramente la causa primaria del carbonchio e del suo contagio. La trasmissione della malattia attraverso i bacilli umidi nel sangue totalmente fresco, avviene in natura del tutto raramente, al massimo può accadere negli uomini, ai quali, durante l'abbattimento, la macellazione e lo spellatura, può finire del sangue o del liquido dei tessuti di animali affetti da carbonchio, in eventuali ferite. Più frequentemente accade che la malattia venga indotta dai bacilli asciutti, i quali, come dimostrato, mantengono la loro efficacia per alcuni giorni e, nel caso migliore, anche per circa cinque settimane. Attaccati agli insetti, alla lana e simili, ma soprattutto con al polvere, possono finire sulle ferite e richiamare così la malattia. Masse contenenti bacilli, che finiscono nell'acqua e vi vengono fortemente diluite, perdono ben presto la loro efficacia e contribuiscono probabilmente solo marginalmente alla diffusione del carbonchio.

Ma, la vera e propria massa delle affezioni, che compare quasi sempre in circostanze simili, tanto da escludere i metodi di contagio appena elencati, può essere causata solamente dall'immigrazione di spore del *Bacillus Anthracis* nel corpo animale. Infatti, gli stessi bacilli riescono a restare in vita solamente per breve tempo in condizioni asciutte continue e non riescono perciò a mantenersi né nel terreno umido, né a opporre resistenza alle condizioni atmosferiche mutevoli (precipitazioni, rugiada), mentre le spore non resistono in nessun modo. Né l'aridità per anni e anni, né la permanenza per mesi nel liquido putrefatto, né il ripetuto prosciugamento e umidificazione riesce a disturbare la loro capacità di germogliazione. Una volta che queste spore si sono formate, allora è garantito a sufficienza che il carbonchio, per lungo tempo in una zona, non si estingue. Ma, che la possibilità per la sua comparsa sia data abbastanza spesso, è stato già sottolineato in precedenza.

eines Thieres zu gelangen, so ist bei ihrer grossen Zahl doch die Wahrscheinlichkeit nicht gering, dass einige vielleicht nach langer Lagerung im Boden oder im Grundwasser, oder an Haaren, Hörnern, Lumpen und dergleichen angetrocknet als Staub, oder auch mit Wasser auf die Haut der Thiere gelangen und hier direct durch eine Wunde in die Blutbahn eintreten, oder auch später durch Reiben, Scheuern und Kratzen des Thieres in kleine Hautabschilferungen eingerieben werden. Möglicherweise dringen sie auch von den Luftwegen oder vom Verdauungskanal aus in die Blut- oder Lymphgefässe ein.

Wenn es nun gelungen ist, die Art und Weise der Verbreitung des Milzbrandes und die Bedingungen aufzufinden, unter denen das Contagium sich immer wieder von Neuem erzeugt, sollte es da nicht möglich sein, unter Berücksichtigung jener Bedingungen das Contagium, also den *Bacillus Anthracis*, in seiner Entwicklung zu hindern und so die Krankheit auf ein möglichst geringes Mass zu reduciren; vielleicht sogar gänzlich auszurotten? Dass diese Frage ein nicht geringes Interesse beansprucht, mag daraus hervorgehen, dass nach Spinola¹⁾ ein einziger preussischer Kreis (Mannsfelder Seekreis) jährlich für 180,000 Mk. Schafe durch Milzbrand verliert, dass allein im Gouvernement Nowgorod in den Jahren 1867—1870 über 56,000 Pferde, Kühe und Schafe und ausserdem 528 Menschen an Milzbrand zu Grunde gingen²⁾.

Die jetzt bestehenden Massregeln gegen den Milzbrand beschränken sich auf Anzeigepflicht, Vergraben der Cadaver in mässig tiefen Gruben, Desinfection und Absperrung des von der Seuche befallenen Ortes. Ganz abgesehen davon, dass erfahrungsgemäss wegen der höchst lästigen Sperrmassregeln die wenigsten Milzbrandfälle angezeigt werden und dass der gerade unter den Schafen am meisten verbreitete Milzbrand fast ganz unbeachtet bleibt und vernachlässigt wird, so muss offenbar das Eingraben der Cadaver in den feuchten Erdboden die Bildung von Sporen und damit die Fortpflanzung des Contagiums eher fördern als dieselbe verhindern. Bis jetzt ist es anscheinend auch noch nirgends wo gelungen, auf diese Weise den Milzbrand dauernd zu beseitigen. Im Gegentheil hat Oemler³⁾ seinen Schafverlust an Milzbrand von 21 % pro anno auf 2 % herabgebracht, nachdem er das

1) Pappenheim, Sanitätspolizei Band II. p. 276.

2) Grimm (Virchow's Archiv B. 54 p. 262) citirt nach Bollinger l. c. p. 469.

3) Bollinger l. c. p. 453.

Un unico cadavere, trattato inadeguatamente, può procurare spore in quantità innumerevoli e, quando anche milioni di queste muoiono senza arrivare alla germogliazione nel sangue di un animale, nonostante la loro enorme quantità, ci sono non poche probabilità che alcune, forse dopo una lunga permanenza nel terreno e nelle falde acquifere, o nei peli, o nelle corna, negli stracci o simili, asciutte sotto forma di polvere, oppure con acqua, capitino sulla pelle degli animali e qui, in maniera diretta, entrino attraverso una ferita nel canale sanguigno, oppure in seguito a strofinamenti e graffiature dell'animale, vengano introdotte in piccole aperture della pelle. E' possibile che entrino anche dalle vie respiratorie o dal canale digerente nei vasi sanguigni o linfatici.

Se quindi è riuscito di trovare il modo di propagazione del carbonchio e le sue condizioni, per le quali il contagio si rigenera sempre daccapo, non sarebbe possibile, sotto osservazione di queste condizioni di contagio, modificare il *Bacillus Anthracis* durante il suo sviluppo e ridurre così la malattia al minimo o, addirittura, annientarla del tutto? Che questa domanda susciti un interesse non indifferente, è dovuto, secondo Spinola¹¹, al fatto che un unico circolo prussiano (circolo marino di Mannsfeld) perde annualmente, a causa del carbonchio, pecore del valore di 180,000 marchi, e che solamente nella regione di Nowgorod, negli anni 1867-1870, morirono di carbonchio più di 56,000 cavalli, mucche e pecore e, inoltre, 528 persone¹².

Le direttive attualmente esistenti contro il carbonchio si limitano all'obbligo di notificazione, al seppellimento dei cadaveri in fosse abbastanza profonde, alla disinfestazione e alla chiusura del luogo infestato dalla vittima. A prescindere dal fatto che, a causa delle regole di sbarramento altamente fastidiose, possono essere rilevati solamente pochissimi casi di carbonchio e che il carbonchio, diffuso maggiormente tra le pecore, resta quasi del tutto inosservato e viene così trascurato, evidentemente in questo modo il seppellimento dei cadaveri nei terreni umidi provoca la formazione delle spore e la diffusione del contagio, anziché impedirla. Fino ad ora, evidentemente, con tale metodo non è riuscito ancora da nessuna parte di annientare definitivamente il carbonchio. Oemler¹³ al contrario ha ridotto la sua perdita di pecore, per via del carbonchio, dal 21% al 2% all'anno, dopo aver vietato severamente il seppellimento dei cadaveri, senza eccezione, sui campi e pascoli.

¹¹ Pappenheim, Polizia sanitaria, vol. II, p. 276.

¹² Grimm (Archivio di Virchow, vol. 54, p. 262) citato secondo Bollinger, ultimo capitolo, p. 469.

¹³ Bollinger ultimo capitolo, p. 453.

Verscharren aller Cadaver ohne Ausnahme auf Feldern und Weiden auf das Strengste untersagt hatte.

Wir müssen uns also nach anderen Mitteln umsehen, um die Heerden von diesem Würgeengel zu befreien und tausende von Menschen vor einem qualvollen Tode zu schützen.

Das sicherste Mittel wäre, alle Substanzen, welche *Bacillus Anthracis* enthalten, zu vernichten. Da es aber nicht ausführbar ist, diese Menge von Cadavern, wie sie der Milzbrand liefert, durch Chemikalien oder Siedehitze unschädlich zu machen, oder gar durch Verbrennen aus dem Wege zu schaffen, so müssen wir auf dieses Radicalmittel verzichten. Wenn es aber auch nur gelänge, die Entwicklung der Bacillen zu Sporen zu verhindern oder wenigstens auf ein Minimum zu reduciren, dann müssten schon die Milzbrand-Erkrankungen immer mehr und mehr abnehmen und schliesslich verschwinden.

Da die Bacillen, wie wir gesehen haben, zur Sporenbildung Luftzufuhr, Feuchtigkeit und eine höhere Temperatur als ungefähr 15° nöthig haben, so muss es genügen, ihnen eine dieser Bedingungen zu nehmen, um sie an der Weiterentwicklung zu hindern. Die schnelle Austrocknung grosser Cadaver würde besondere Apparate erfordern und selbst grössere Schwierigkeiten machen, als das Verbrennen. Dagegen könnte man ohne erhebliche Mühe und Kosten die Milzbrand-Cadaver längere Zeit, auch selbst im Sommer, unter 15° abkühlen, ihnen gleichzeitig den Sauerstoffzutritt beschränken und auf diese Weise die Bacillen zum Absterben bringen. Wenn man nämlich bedenkt, dass im mittleren Europa, also namentlich in Deutschland in einer Boden-Tiefe von 8—10 Metern eine fast constante Temperatur herrscht, welche dem Jahresmittel sehr nahe kommt, also auf jeden Fall unter 15° C. bleibt, so brauchte man nur geräumige Brunnen oder Gruben von dieser Tiefe anzulegen und die Milzbrandcadaver darin zu versenken, um die Bacillen zu vernichten und die Cadaver dadurch unschädlich zu machen. Je nach der Durchschnitts-Zahl der Milzbrandfälle müssten derartige Gruben in geringer oder grosser Zahl für bestimmte Bezirke gemacht werden. Dieselben würden sich in mässiger Entfernung von den Wirtschaftsgebäuden befinden und natürlich mit einem sicheren Verschluss zu versehen sein. Man würde dadurch zugleich den nicht zu unterschätzenden Vortheil erlangen, dass nicht, wie es jetzt gewöhnlich geschieht und wie ich aus eigener Erfahrung weiss, die vorschriftsmässig oder auch vorschriftswidrig vergrabenen Milzbrandcadaver regelmässig von Dieben (oft genug von denselben Leuten,

Ci dobbiamo quindi guardare attorno, alla ricerca di altri metodi per liberare le greggi da questo “angelo sterminatore” e proteggere migliaia di persone da una morte straziante.

La soluzione migliore sarebbe quella di sterminare tutte le sostanze che contengono il *Bacillus Anthracis*. Ma, dato che non è possibile rendere inoffensive, tramite prodotti chimici, queste quantità di cadaveri, procurati dal carbonchio, oppure eliminarle bruciandole, dobbiamo minimo, lo sviluppo dei bacilli in spore, allora le affezioni da carbonchio dovrebbero diminuire sempre di più fino a scomparire completamente.

Dato che, come abbiamo visto, per la formazione delle spore i bacilli necessitano di accesso di aria, umidità e una temperatura elevata di almeno 15°, allora dovrebbe essere sufficiente togliergli una di queste condizioni, per impedirgli la continuazione dello sviluppo. Il veloce inaridimento di grossi cadaveri necessiterebbe di apparecchiature specifiche e comporterebbe difficoltà maggiori che non bruciandoli. Al contrario, durante l'estate si potrebbero raffreddare i cadaveri, senza troppo impegno o costi, per lungo tempo sotto 15°, contemporaneamente limitargli l'afflusso di ossigeno e, in questo modo, portare i bacilli alla morte. Se infatti si pensa che, nell'Europa centrale, particolarmente in Germania, ad una profondità del terreno di circa 8-10 metri regna una temperatura quasi costante e, anche nella parte centrale dell'anno, rimane in ogni caso sotto i 15°, allora bisognerebbe semplicemente predisporre delle fosse abbastanza capienti a questa profondità e deporvi dentro i cadaveri da carbonchio, per annientare i bacilli e rendere così inoffensivi i cadaveri. In base alla media dei casi di carbonchio, le fosse di questo tipo dovrebbero essere fatte in numero maggiore o minore in determinati territori. Questi infatti, dovrebbero essere situati ad una distanza elevata dal centro abitato e dotati di una recinzione sicura. In questo modo si giungerebbe al vantaggio, da non trascurare, che non accadrebbe più, come fino ad oggi l'esperienza mi ha insegnato che, i cadaveri seppelliti a norma vengano costantemente tolti nuovamente fuori dalla fossa, fatti a pezzi e sparsi in giro da ladri della notte (la maggior parte delle volte si tratta delle stesse persone che durante il giorno li hanno seppelliti).

welche sie am Tage eingescharrt haben) des Nachts wieder herausgeholt, zertheilt und überall hin verschleppt werden.

Vielleicht verhindert auch der Einfluss gewisser Bodenarten oder ein gewisser Feuchtigkeitsmangel und tiefer Grundwasserstand die Sporenentwicklung, worauf das an bestimmte Gegenden gebundene Vorkommen des Milzbrandes und die Abnahme desselben nach ausgedehnten Meliorationen und Entwässerungen hindeutet.

Der von Buhl berichtete Fall¹⁾, dass Milzbrand unter Pferden auf dem Gestüte NeuhoF bei Donauwörth vollkommen aufhörte, als man auf den Rath v. Pettenkofer's den Stand des Grundwassers durch Drainage herabgesetzt hatte, würde gleichfalls hierher gehören.

Auf jeden Fall ist die Möglichkeit, die Entwicklung der Milzbrandsporen zu verhüten, gegeben und das grosse Interesse, welches diese Angelegenheit beansprucht, müsste zu weiteren Versuchen in der angegebenen Richtung auf geeigneten Versuchstationen dringend auffordern.

Eine Wahrnehmung, welche ich in hiesiger Gegend über das Vorkommen des Milzbrandes gemacht habe, schliesse ich hier noch an, weil dieselbe für die Milzbrandprophylaxis wohl zu berücksichtigen ist. Es ist nämlich auffallend, dass der Milzbrand das ganze Jahr hindurch fast ohne Unterbrechung unter den Schafen herrscht. In den grösseren Heerden fallen fast niemals viele Schafe auf einmal, sondern gewöhnlich einzelne oder wenige in Zwischenräumen von einigen Tagen oder Wochen. Rinder werden weit seltener und nur in grossen Pausen befallen, so dass öfters mehrere Monate, ein halbes Jahr und noch längere Zeit zwischen den einzelnen Fällen liegen. Bei Pferden tritt Milzbrand hier nur ganz ausnahmsweise auf. Es scheint demnach, dass das Schaf das eigentliche Wohnthier des *Bacillus Anthracis* ist und dass er nur unter besonderen Verhältnissen gelegentlich Excursionen auf andere Thierarten macht. Für diese Ansicht spricht auch die Beobachtung von Leonhardt²⁾, dass in Bönstadt, welches sehr viel durch Milzbrand litt, derselbe unter den Rindern fast vollkommen erlosch, nachdem man die Schafe abgeschafft hatte, welche im Sommer massenhaft an Milzbrand fielen. Es folgt aber daraus, dass bei allen Massregeln gegen die Seuche der Milzbrand unter den Schafheerden die meiste Beachtung verdient.

V. *Vergleich des Milzbrandes mit anderen Infections-Krankheiten.* Damit, dass der Milzbrand auf seine eigentlichen Ursachen zurückgeführt wurde, ist es gleichzeitig zum ersten Male gelungen,

¹⁾ Bollinger l. c. p. 455. ²⁾ Bollinger l. c. p. 453.

Probabilmente, anche l'influsso di determinati tipi di terreno o una particolare carenza di umidità e profondità della falda acquifera impediscono lo sviluppo delle spore, per cui la comparsa del carbonchio, legata a determinate zone, e la diminuzione dello stesso indicano un ampio miglioramento e un prosciugamento.

Il caso documentato da Buhl¹⁴, che tra i cavalli della scuderia di NeuhoF a Donauwörth il carbonchio sparì totalmente quando, su consiglio di v. Pettenkopfer, si ridusse lo stato della falda acquifera tramite drenaggio, appartiene anch'esso a questo argomento.

In ogni caso, la possibilità di prevenire lo sviluppo delle spore di carbonchio è stata data e il grande interesse che suscita questa faccenda dovrebbe invitare a condurre ulteriori esperimenti, nella direzione data, in adeguate stazioni sperimentali.

Aggiungo anche un'osservazione che ho fatto qui in zona sulla comparsa del carbonchio, dato che sarebbe da prendere in considerazione per la profilassi del carbonchio. E', infatti, sorprendente che il carbonchio regni tra le pecore, per tutto l'anno senza interruzione. Nelle greggi più grandi, le pecore non muoiono quasi mai tutte insieme ma, solitamente, singolarmente o poche per volta, suddivise nell'arco di alcuni giorni o settimane. I bovini vengono colpiti molto più raramente e solo in grandi pause di tempo, cosicché ci siano spesso più mesi, un semestre e anche più tempo tra i singoli casi. Tra i cavalli, il carbonchio comparve solo eccezionalmente. Sembra perciò che, la pecora sia l'effettivo animale in cui dimora il *Bacillus Anthracis* e che, solo in particolari condizioni, faccia occasionali escursioni in altre specie animali. A favore di questa opinione parla anche l'osservazione di Leonhardt¹⁵, secondo la quale a Bönstadt, che soffrì molto a causa del carbonchio, quest'ultimo si spense quasi completamente tra i bovini, dopo che le pecore, colpite da carbonchio durante l'estate, furono soppresse in massa. Ne segue però che, con tutte le norme contro l'epidemia, il carbonchio tra le greggi di pecore merita l'osservazione maggiore.

¹⁴ Bollinger, ultimo capitolo, p. 455.

¹⁵ Bollinger, ultimo capitolo, p. 453.

Licht über die Aetiologie einer jener merkwürdigen Krankheiten zu verbreiten, deren Abhängigkeit von Bodenverhältnissen genügend aufzuklären weder den Anstrengungen der Forschung, noch den kühnsten und verwickeltesten Hypothesen bislang möglich gewesen ist. Es liegt deswegen sehr nahe, einen Vergleich zwischen Milzbrand und den durch ihre Verbreitungsweise ihm nahestehenden Krankheiten, vor Allem mit Typhus und Cholera anzustellen.

Mit Typhus hat der Milzbrand Aehnlichkeit durch die Abhängigkeit vom Grundwasser, durch die Vorliebe für Niederungen, durch das über das ganze Jahr vertheilte sporadische Auftreten und das daneben eintretende Anschwellen der Erkrankungsfälle zur Epidemie im Spätsommer. Die ersten der oben genannten Punkte treffen auch für die Cholera zu; in einer Hinsicht aber stimmt das Contagium der Cholera mit dem des Milzbrandes in so eigenthümlicher Weise zusammen, dass wohl die Annahme eines reinen Zufalls ausgeschlossen werden muss. v. Pettenkofer hat darauf hingewiesen, dass das Cholera-Contagium auf Schiffen, wenn diese kein Land berühren, meist in drei bis vier Wochen abstirbt, nur wenn dasselbe vor dieser Zeit wieder in geeigneten Boden gelangt, vermag sich die Krankheit weiter zu verbreiten. Nehmen wir nun einmal an, dass der Milzbrand eine Krankheit wäre, welche in Indien heimisch ist, und dass von dieser Krankheit befallene Thiere nur nach vier- bis fünf-wöchentlicher Seefahrt zu uns gelangen könnten, dann würde gerade so wie bei der Cholera eine Verschleppung auf dem Seewege nicht möglich sein, da sich aus Mangel an feuchtem Boden keine Sporen bilden könnten und die etwa an Gegenständen eingetrockneten Bacillen schon vor Beendigung der Fahrt abgestorben wären. Würden wir noch ferner annehmen, dass der Milzbrand eine Krankheit sei, die nicht durch grosse Bacillen, sondern durch andere ausserordentlich kleine, an der Grenze des Sichtbaren stehende Schizophyten erzeugt werde, welche nicht frei im Blute, sondern (wie die Bacillen in der Pferdemitz) in den weissen Blutkörperchen, in den Zellen der Lymphdrüsen und der Milz versteckt, ihre deletäre Wirkung ausüben, dann müsste man diesen Schizophyten eine noch viel nähere Verwandtschaft mit dem Contagium der Cholera und des Typhus zugestehen. Keine Substanz könnte in der That eine grössere Aehnlichkeit mit dem Contagium dieser Krankheit besitzen, als ein derartiges Milzbrandcontagium.

Bei solchen Betrachtungen regt sich unwillkürlich die Hoffnung, dass auch das Typhus- und Cholera-Contagium in Form von Kugelbakterien oder ähnlichen Schizophyten aufzufinden sein müsse. Dem

V. Confronto tra il carbonchio e altre malattie infettive.

Contemporaneamente al fatto che, il carbonchio fu ricondotto alle sue effettive origini, è riuscito per la prima volta di fare luce sull'eziologia di una così singolare malattia, la cui dipendenza dalle condizioni del terreno non è stata spiegata finora a sufficienza né dagli sforzi della ricerca, tanto meno dalle ipotesi più sviluppate. Viene perciò spontaneo formulare un paragone tra il carbonchio e le malattie affini dal punto di vista dei modi di propagazione, soprattutto il tifo e il colera.

Con il tifo, il carbonchio ha delle somiglianze per quanto riguarda la dipendenza dalla falda acquifera, per la predilezione verso i bassopiani, per la comparsa sporadica distribuita in tutto l'arco dell'anno e la conseguente crescita dei casi di infezione da epidemia a fine estate. I primi, tra i succitati punti, riguardano anche il colera; per un aspetto però, il contagio del colera corrisponde con quello del carbonchio in modo talmente bizzarro, che l'ipotesi di una pura casualità debba essere esclusa. v. Pettenkofer ha richiamato l'attenzione sul fatto che il contagio del colera sulle navi, quando queste non toccano la terraferma, nel giro di massimo tre settimane muore; solamente se, prima di tale scadenza, dovesse ricapitare nel terreno adeguato, la malattia è in grado di diffondersi nuovamente. Supponiamo che il carbonchio sia una malattia abituale dell'India e che, gli animali morti di questa malattia possano arrivare da noi solamente dopo quattro o cinque settimane di navigazione, allora non sarebbe possibile, proprio così come per il colera, una diffusione durante la navigazione, dato che, a causa della mancanza di terreno umido, non si potrebbero formare le spore e i bacilli, entro la fine del viaggio, si sarebbero asciugati e sarebbero morti. Se per di più supponessimo che il carbonchio non sia una malattia causata da grandi bacilli ma da schizofiti estremamente piccoli, al confine del visibile, che non sono liberi nel sangue ma (come i bacilli nella milza dei cavalli) lasciano andare il loro effetto deleterio nascosti nei globuli bianchi, nelle cellule delle ghiandole linfatiche e delle milza, allora bisognerebbe concedere a questo schizofita una parentela ancora più stretta con il contagio del colera e del tifo. Nessun'altra sostanza potrebbe, in realtà, possedere una somiglianza maggiore con il contagio di questa malattia, di un simile contagio da carbonchio.

Da queste osservazioni muove istintivamente la speranza che, anche il contagio da tifo e colera sia da trovare sotto forma di batteri sferici o simili schizofiti.

stehen jedoch die erheblichsten Bedenken entgegen. Vorausgesetzt nämlich, dass diese Krankheiten von einem belebten Contagium abhängen, so muss angenommen werden, dass dasselbe unsern optischen Hilfsmitteln schwer oder gar nicht zugänglich ist, da viele der geübtesten Mikroskopiker es bis jetzt vergeblich gesucht haben. Sollte ein derartiges Contagium noch gefunden werden, dann würde uns ausserdem, da Typhus und Cholera nicht auf Thiere zu übertragen ist, das einzige Mittel fehlen, um uns stets von der Identität der möglicherweise in ihrer äusseren Gestalt wenig charakteristischen Schizophyten zu überzeugen. Also gerade das, was die Untersuchungen über das Milzbrand-Contagium so einfach und so sicher macht, nämlich die unverkennbare Form der Bacillen und die durch Impfung fortwährend über sie ausgeübte Controle, würden für Typhus und Cholera fehlen. Trotzdem dürfen wir uns durch die für manche Krankheiten vorläufig noch unüberwindlich erscheinenden Hindernisse nicht abschrecken lassen, dem Ziele, so weit als unsere jetzigen Hilfsmittel es zulassen, nachzustreben. Nur darf man nicht, wie bisher, mit dem Schwierigsten beginnen. Erst muss das Naheliegende erforscht werden, was von unseren Hilfsmitteln noch erreicht werden kann.

Durch die hierbei gewonnenen Resultate und Untersuchungsmethoden müssen wir uns dann den Weg zum Ferneren und Unzugänglicheren zeigen lassen. Das vorläufig Erreichbare auf diesem Gebiete ist die Aetiologie der infectiösen Thierkrankheiten und derjenigen menschlichen Krankheiten, welche, wie Diphtheritis, auf Thiere übertragen werden können. Diese Krankheiten gestatten uns, die für diese Untersuchungen allein nicht mehr ausreichende Kraft des Mikroskops durch das Thier-Experiment zu ergänzen.

Nur mit Zuhülfenahme einer so gewonnenen vergleichenden Aetiologie der Infectionskrankheiten wird es möglich sein, das Wesen der Seuchen, welche das menschliche Geschlecht so oft und so schwer heimsuchen, zu ergründen und sichere Mittel zu finden, um sie fern halten zu können.

Wollstein, Grossherzogthum Posen, 27. Mai 1876.

Tuttavia gli sono di intralcio le più considerevoli delle considerazioni. Dando per scontato che queste malattie dipendono da un contagio vivo, bisogna presupporre che questo non sia facilmente, o per niente, accessibile ai nostri ausili ottici, poiché tantissimi tra gli esperti di microscopio l'hanno finora cercato inutilmente. Nel caso si riuscisse a trovare un simile contagio, allora ci mancherebbe inoltre, dato che il tifo e il colera non è trasmissibile agli animali, l'unico mezzo per convincerci dell'identità di questi schizofiti poco caratteristici. Proprio ciò che rende così semplice e sicuro l'esperimento sul contagio da carbonchio, cioè l'inconfondibile forma dei bacilli e il continuo controllo praticato attraverso il vaccino, mancherebbe per il tifo e il colera. Nonostante ciò non dobbiamo farci scoraggiare dagli ostacoli che per molte malattie appaiono ancora insormontabili e cercare di raggiungere l'obiettivo che ci siamo prefissato. Non bisogna però iniziare, come prima d'ora, con il più difficile. Prima va esaminato ciò a noi più vicino, ciò che può essere ancora raggiunto dai nostri sussidi.

Dai risultati e dai metodi di analisi qui ottenuti, dobbiamo lasciarci indicare la via verso il "lontano" e l'"irraggiungibile". Ciò che, in questo ambito, si può momentaneamente raggiungere è l'eziologia delle malattie animali infettive e di quelle malattie umane che, come la difterite, possono essere trasmesse agli animali. Queste malattie ci permettono di completare la forza, non più sufficiente, del microscopio con gli esperimenti animali.

Solamente con l'ausilio di una tale eziologia comparativa delle malattie infettive sarà possibile esplorare la natura delle epidemie, che affliggono il corpo umano così spesso e pesantemente, e poterle tenere lontane.

Wollstein, Granducato di Posen, 27 maggio 1876.

Figuren - Erklärung.

Tafel XI.

Entwicklungsgeschichte von Bacillus.

Fig. 1-7 Milzbrandbacillen (*Bacillus Anthracis*).

- Fig. 1. Milzbrandbacillen vom Blut eines Meerschweinchens; die Bacillen als glashelle Stäbchen, zum Theil mit beginnender Quertheilung oder geknickt, a weisse, b rothe Blutkörperchen (p. 282).
- Fig. 2. Milzbrandbacillen aus der Milz einer Maus, nach dreistündiger Cultur in einem Tropfen *Humor aqueus*; in Fäden auswachsend, um das 3-8fache verlängert, zum Theil geknickt und gekrümmt (p. 282).
- Fig. 3. Gesichtsfeld aus dem nämlichen Präparat nach zehnstündiger Cultur; die Bacillen in lange Fäden ausgewachsen, die oft zu Bündeln um einander geschlungen sind; a in einzelnen Fäden erscheinen stärker lichtbrechende Körnchen in regelmässigen Abständen (p. 282).
- Fig. 4. Gesichtsfeld aus dem nämlichen Präparat nach 24stündiger Cultur; a in den Fäden haben sich länglich runde Sporen perlchnurartig in regelmässigen Abständen entwickelt; b manche Fäden sind in Auflösung begriffen, die Sporen frei, einzeln oder in Häufchen zusammengeballt (p. 283).
- Fig. 5. Keimung der Sporen; a mit Hartnack 9 Imm. von Koch, b mit Seibert VIII. Imm. von Cohn gezeichnet (vgl. p. 289). Die Spore verlängert sich in ein walzenförmiges Körperchen, die stark lichtbrechende Masse bleibt an einem Pole liegen, wird kleiner, zerfällt in 2 oder mehr Partien und ist schliesslich ganz verschwunden.
- Fig. 6. Darstellung der Cultur der Milzbrandbacillen in einem hohlgeschliffenen, mit einem Deckglas bedeckten, mittelst Olivenöl ringsum luftdicht abgeschlossenen und durch einen heizbaren M. Schulze'schen Objecttisch auf Blutwärme erhitzten Objectträger; Natürl. Grösse. Die Bacillen befinden sich in einem Tropfen von frischem *Humor aqueus*; schon mit blossen Augen erkennt man die von der Stelle der Aussaat in den Tropfen hineingewucherten, leicht flottirenden äusserst feinen Fadenmassen (p. 284).

Spiegazione delle raffigurazioni

Tavola XI.

Storia evolutiva del *Bacillus*.

Fig. 1-7 **Bacilli di carbonchio** (*Bacillus Antracis*)

Fig. 1. Bacilli di carbonchio dal sangue di un porcellino d'india; i bacilli come bastoncini trasparenti, in parte con suddivisione trasversale o piega, a globuli bianchi, b globuli rossi (p. 282).

Fig. 2. Bacilli di carbonchio dalla milza di un topo, in seguito di una coltura di tre ore in una goccia di *Humor aqueus*; in fase di assumere l'aspetto di fili, allungati di circa 3-8 volte, in parte piegati e ricurvi (p. 282).

Fig. 3. Campo visivo dello stesso preparato dopo una coltura di dieci ore; i bacilli, trasformati in lunghi fili, che sono spesso avvolti su se stessi in gomitolini; a nei singoli fili appaiono granuli fortemente rifrangenti ad intervalli regolari (p. 282).

Fig. 4. Campo visivo dello stesso preparato dopo una coltura di 24 ore; a nei fili si sono sviluppate delle spore leggermente tondeggianti e allungate, tipo filo di perle, ad intervalli regolari; b alcuni fili si stanno sciogliendo, le spore sono libere, singolarmente o raggruppate in mucchietti (p. 283).

Fig. 5. Germogliazione delle spore; a indicati da Koch con Hartnack 9 Imm., b indicati da Cohn con Seibert VIII. Imm (rif. p. 289). La spora si allunga in un corpicino cilindrico, la massa fortemente rifrangente rimane ad un polo, diventa più piccola, si spezza in 2 o più parti ed è infine totalmente scomparsa.

Fig. 6. Rappresentazione della coltura dei bacilli di carbonchio in un porta oggetti concavo, coperto con un vetrino, chiuso tutto attorno ermeticamente con dell'olio di oliva e surriscaldato secondo il metodo di Schulze a temperatura sanguigna; Grandezza naturale. I bacilli si trovano in una goccia di *Humor aqueus* fresco; già a occhio nudo si riconoscono le masse di fili leggermente fluttuanti (p. 284).

Fig. 7. Gesichtsfeld aus der Umhüllungsschicht eines unter die Rückenhaut eines Frosches gebrachten Stückchens von der Milz einer milzbrandigen Maus; die Schicht besteht aus grossen, kernhaltigen Zellen a; in einzelnen Zellen sind mehrere kurze, etwas geknickte oder gekrümmte, zu Haufen vereinigte oder spiralig gedrehte *Bacillen* (b) aufgenommen, welche in den Zellen weiter wachsen und diese zuletzt sprengen; c zusammengefallene Zellmembranen, g freigewordene *Bacillenspiralen*; e Blutkörperchen des Frosches; auch unveränderte *Bacillen* sind sichtbar (p. 301).

Fig. 8—10 *Heubacillen* (*Bacillus subtilis*).

Fig. 8. *Bacillen* in lange, parallel neben einander gelagerte Fäden ausgewachsen, welche ein irisirendes Häutchen auf der Oberfläche eines gekochten Heuaufgusses nach 24—48 Stunden bilden; in den Lacunen der Parallelreihen findet man noch bewegliche kurze (b) oder in Verlängerung begriffene Stäbchen (a) (p. 262).

Fig. 9. Sporenbildung in den gegliederten Fäden der *Heubacillen* nach 3 Tagen (p. 263).

Fig. 10. *Bacillus*fäden bündelweise durch Schleim verbunden und zu krausen Schleimflocken gruppiert; am linken Ende der Zeichnung beginnt die Bildung der Sporenketten in den Fäden (p. 263).

Fig. 11. Fragment eines Schleimbündels, in welchem sich die Bildung der Sporenketten vollendet und die einzelnen *Bacillus*fäden undeutlich geworden, die Sporen aber noch in parallelen Reihen geordnet und durch Schleim zusammengehalten erscheinen (p. 264).

Die Figuren 1—7 sind nach *Milzbrandbacillen* (*Bacillus Anthracis*) von Dr. Koch, Fig. 8—11 nach *Heubacillen* von Prof. Cohn gezeichnet; vergl. übrigens p. 275. Vergrößerung von 1—7, 8 u. 10 = 650 (gezeichnet mit Hartnack Immers. IX), von 5b u. 9 Vergr. 1650 (gezeichnet mit Seibert Immers. VIII), von 11 Vergr. 900 (Seibert VI.).

Fig. 7. Campo visivo dallo strato di copertura di un pezzetto di milza di un topo affetto da carbonchio, posizionato sotto la pelle della schiena di una rana; lo strato si compone di grosse cellule contenenti nuclei a; nelle singole cellule sono stati rilevati bacilli (b) corti, leggermente piegati o curvati, riuniti in mucchietti o girati a forma di spirale, i quali continuano a crescere nelle cellule fino a farle esplodere; c globuli della rana; sono visibili anche i bacilli invariati (p. 301).

Fig. 8-10 **Bacilli da fieno** (*Bacillus subtilis*).

Fig. 8. Bacilli trasformati in lunghi fili, disposti parallelamente, che formano una pellicina irrisoria sulla superficie di un infuso di fieno dopo 24-48 ore; nelle lacune delle file parallele si trovano ancora dei corti bastoncelli mobili (b) o in fase di allungamento (a) (p. 262).

Fig. 9. Formazione delle spore nei fili suddivisi dei bacilli da fieno dopo 3 giorni (p. 263).

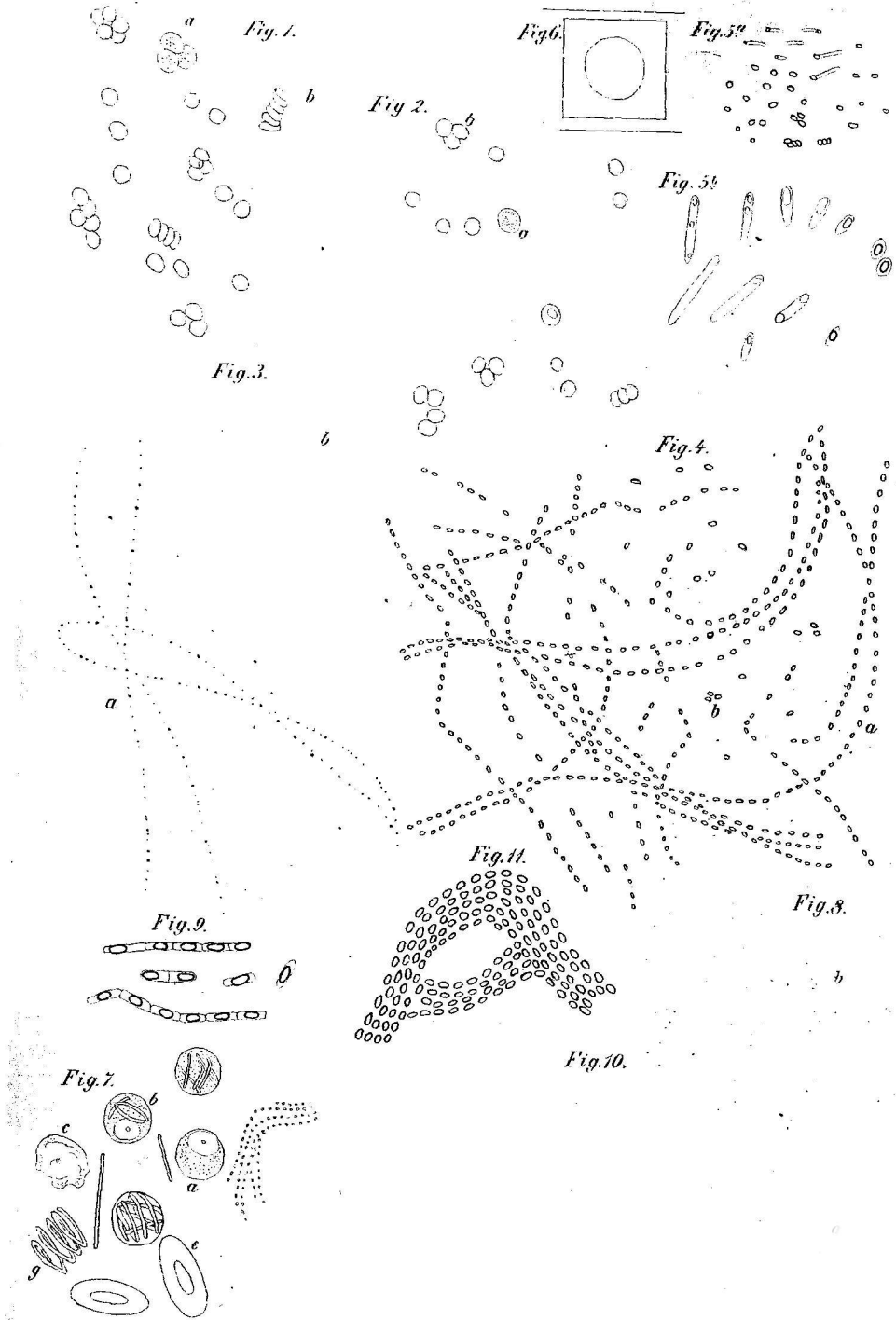
Fig. 10. Fili di bacilli legati tipo gomito da muco e raggruppati in fiocchi di muco contorti; nella terminazione sinistra della raffigurazione inizia la formazione delle catene di spore nei fili (p. 263).

Fig. 11. Frammento di un fagotto di muco, nel quale si conclude la formazione delle catene di spore e i singoli fili di bacilli sembrano diventati imprecisi, ma le spore appaiono ancora ordinate in file parallele e tenute insieme dal muco (p. 264).

Le figure 1-7 sono rappresentate secondo i bacilli di carbonchio (*Bacillus Anthracis*) di Dr. Koch, le figure 8-11 secondo i bacilli da fieno del Prof. Cohn; si veda tra l'altro p. 275. Gli ingrandimenti da 1-7, 8 e 10 = 650 (rappresentati con Immers. IX di Hartnack), ingrandimenti di 5b e 9 = 1650 (rappresentati con Immers. VIII di Seibert), ingrandimenti di 11 = 900 (Seibert VI).

E. Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen.

Band II, Taf. XVI.



Ricerche sperimentali sulla malattia carbonchiosa

Toussaint H., *Recherches expérimentales sur la maladie charbonneuse*, Paris, 1879.
(Traduzioni cap. : introduzione, cap. II, III, VIII).

Série 1.

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

N° 47.

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR

LA MALADIE CHARBONNEUSE

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le mardi 45 juillet 1879

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

H. TOUSSAINT

né à Basseville (Doubs), le 20 Avril 1857

DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES, LAURÉAT DE L'INSTITUT
(Prix de Physiologie expérimentale 1876)

PROFESSEUR DE PHYSIOLOGIE A L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE, CHARGÉ DU MÊME COURS
A L'ÉCOLE DE MÉDECINE DE CETTE VILLE



LYON

PITRAT AÏNÉ, IMPRIMEUR DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

RUE GENTIL, 4

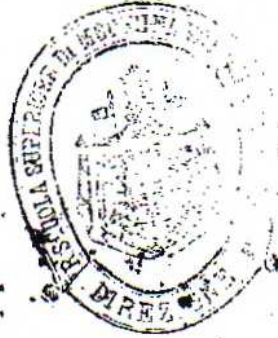
Juillet 1879

A M. H. BOULEY

MEMBRE DE L'INSTITUT
INSPECTEUR GÉNÉRAL DES ÉCOLES VÉTÉRINAIRES

A MON MAÎTRE

M. LE PROFESSEUR CHAUVEAU



PRÉFACE

J'ai proscrit de la partie expérimentale de ce travail toute hypothèse non immédiatement contrôlée par l'expérience, c'est dire qu'on n'y rencontrera que des faits et les conséquences logiques et immédiates qu'il est permis d'en tirer touchant la maladie que j'ai spécialement étudiée, c'est-à-dire le charbon.

Néanmoins, dans l'étude de cette maladie infectieuse, dont la cause est actuellement mise hors de doute, on est porté tout naturellement à la comparer avec les affections de la même famille encore peu connues, mais dont il est permis de soupçonner l'étiologie, grâce à l'impulsion remarquable donnée à la pathologie, par les travaux de M. Pasteur. On se sent enfin fort disposé à étendre aux autres maladies infectieuses la signification des faits révélés par l'étude de la bactériidie.

Qu'une généralisation de cette nature ne puisse être complète et qu'il y ait des différences notables dans le mode d'origine et de propagation du charbon et des ma-

PREFAZIONE

Ho bandito dalla parte sperimentale di questo lavoro ogni ipotesi non verificata dall'esperienza; non si troveranno nel presente lavoro che i fatti e le conseguenze logiche ed immediate che è possibile dedurre riguardo la malattia che ho studiato in particolare, cioè il carbonchio.

Nondimeno, nello studio di questa malattia infettiva, la cui causa è attualmente messa fuori dubbio, si è portati naturalmente a compararla con le affezioni della stessa famiglia ancora poco conosciute, ma delle quali è permesso intuire l'eziologia, grazie al notevole impulso dato alla patologia dai lavori del Signor Pasteur. Ci si sente infine molto inclini ad estendere alle altre malattie infettive il significato dei fatti rivelati dallo studio dell'antrace.

Che una generalizzazione di questa natura non possa essere completa e che ci siano delle differenze notevoli nel modo di origine e di propagazione del carbonchio e delle malattie

— 2 —

ladies infectieuses telles que les affections des marais, la fièvre jaune, le choléra, la peste, la fièvre typhoïde, les maladies septiques ou puerpérales, il n'en faut pas douter ; mais certaines réflexions nous conduisent forcément à admettre que la cause de ces diverses affections n'est et ne peut être autre chose qu'un organisme capable de se multiplier avec plus ou moins de rapidité et de causer les désordres observés. Voici en quelques lignes comment j'estime qu'il est possible de concevoir l'infection et la nature du germe contagieux dans l'état actuel de nos connaissances.

Quelle que soit l'opinion que l'on professe sur les maladies infectieuses, on est obligé d'admettre qu'elles sont causées par un agent venu de l'extérieur. Quelle est donc la nature de cet agent ? Ce peut être un gaz, une vapeur, un poison ou un être figuré ; mais dans l'une ou l'autre hypothèse on est forcé de reconnaître que la quantité du produit spécifique a augmenté dans de grandes proportions à partir du moment où il a pénétré dans l'organisme, jusqu'à celui où il a causé les phénomènes ultimes de la maladie ; il n'y a pas d'exemple d'une maladie infectieuse arrivée à sa période aiguë en un instant, d'une façon foudroyante, aussitôt après le contact du contagium ; il y a toujours une certaine période intermédiaire entre le moment où le malade a été soumis à l'action du contagium et le moment où la maladie s'est déclarée. C'est à cette période que l'on a donné le nom assez impropre d'incubation. Donc une maladie infectieuse implique une multiplication incessante et progressive de la cause qui

infettive come le malattie di palude, la febbre gialla, il colera, la peste, la febbre tifoide, le malattie settiche o puerperali, questo è fuori dubbio; ma certe riflessioni ci conducono necessariamente ad ammettere che la causa di queste diverse malattie non è e non può essere altra cosa che un organismo capace di moltiplicarsi con più o meno rapidità e di causare i disordini osservati. Ecco a grandi linee come ritengo sia possibile concepire l'infezione e la natura del germe mezzo di contagio nello stato attuale delle nostre conoscenze.

Quale che sia l'opinione che si professa sulle malattie infettive, si è obbligati ad ammettere che queste sono causate da un agente venuto dall'esterno. Qual'è dunque la natura di questo agente? Si può trattare di un gas, di un vapore, di un veleno o di un essere figurato; ma nell'una e nell'altra ipotesi si è costretti a riconoscere che la quantità di prodotto specifico è aumentata in grandi proporzioni a partire dal momento in cui esso è penetrato nell'organismo fino a quello in cui ha causato i fenomeni ultimi della malattia; non vi è un esempio di malattia infettiva giunta al suo stato acuto in un istante, in una modalità folgorante, appena dopo il contatto del contagium; vi è sempre un certo periodo intermedio tra il momento in cui il malato è stato soggetto all'azione del contagio e il momento in cui la malattia si manifesta. È a questo periodo che si è dato il nome abbastanza improprio di incubazione. Dunque una malattia infettiva implica una moltiplicazione incessante e progressiva della causa che l'ha prodotta; da cui segue che questa causa deve avere la proprietà di moltiplicarsi.

— 3 —

l'a produite; d'où il suit que cette cause doit avoir la propriété de se multiplier.

C'est pourquoi les théories qui considèrent les maladies infectieuses ou miasmatiques comme causées par des émanations de nature gazeuse ou des vapeurs, ne sont pas soutenables. Les progrès accomplis par les sciences physico-chimiques nous forcent à réprover de pareilles conceptions. Nous savons aujourd'hui dans quelles conditions la production des gaz est possible, nous connaissons également leur mode d'action sur les tissus de l'économie. Un gaz, une vapeur, de quelque nature qu'ils soient, ne peuvent agir que par une action instantanée; ils pourront produire un malaise subit, quelquefois un empoisonnement mortel, mais leur action sera toujours rapide et de courte durée. On ne comprendrait pas, et aucun esprit sérieux n'admettrait l'action d'un gaz qui, introduit dans l'économie, ne manifesterait son activité qu'à longue échéance, au bout de plusieurs jours ou de plusieurs semaines. De plus il faudrait admettre qu'au moment de l'aggravation des symptômes, le gaz s'est reproduit et en quantité de plus en plus considérable. C'est à des conclusions de cette nature que nous conduiraient les doctrines du contagium volatil, des émanations gazeuses septiques, et c'est pourquoi nous les repoussons.

Le mode bien connu d'action des poisons ne nous permet pas davantage de considérer ces maladies comme étant dues à l'action d'une substance toxique. Les poisons, quelque violents qu'ils puissent être, n'agissent que s'ils se trouvent en quantité pondérable. Les substan-

È per questo motivo che le teorie che considerano le malattie infettive o miasmatiche come causate da emanazioni di natura gassosa o di vapori, non sono sostenibili. Il progresso realizzato dalle scienze fisico-chimiche ci costringono a disapprovare simili concezioni. Noi oggi sappiamo in quali condizioni la produzione dei gas è possibile, e conosciamo anche il loro modo di azione sui tessuti dell'economia.

Un gas, un vapore, di qualsiasi natura siano, non possono agire che per un'azione istantanea; potranno produrre un male subito, qualche volta un avvelenamento mortale ma la loro azione sarà sempre rapida e di corta durata. Non si capirebbe, e alcun spirito serio ammetterebbe l'azione di un gas che, introdotto nell'economia, non manifestasse la sua attività che a lungo termine, dopo diversi giorni o numerose settimane. Inoltre sarebbe necessario ammettere, che al momento dell'aggravamento dei sintomi, il gas si è riprodotto e in quantità sempre più considerevole. È a conclusioni di questa natura che ci condurrebbero le dottrine del contagio volatile e delle emanazioni gassose settiche, ed è per questo motivo che noi le respingiamo.

La ben nota modalità d'azione dei veleni non ci permette più di considerare queste malattie come dovute all'azione di una sostanza tossica. I veleni, per quanto potenti possano essere, non agiscono se non sono presenti in quantità ponderabile.

— 4 —

ces infectieuses agissent en quantités infinitésimales, des millionnièmes de milligrammes tuent les animaux aussi sûrement que des grammes, quoique un peu moins rapidement. Dans l'action des poisons, les phénomènes provoqués arrivent à leur maximum aussitôt que la substance toxique est absorbée, il n'y a pas de période neutre, comme on en observe après l'exposition aux miasmes. Le simple raisonnement nous conduit aussi à éliminer le poison septique.

Il ne reste donc que l'hypothèse des germes figurés, des germes qui peuvent se reproduire; pour donner une signification bien précise à notre pensée, il ne reste que la *théorie parasitaire* qui puisse être appliquée logiquement au développement et à la contagion des maladies infectieuses.

Grâce aux travaux de M. Pasteur, nous savons que l'air tient en suspension des quantités innombrables de germes que les courants atmosphériques peuvent entraîner au loin et qui se multiplient avec une étonnante rapidité dès qu'ils sont arrivés dans un milieu favorable. M. Pasteur a réduit à néant la doctrine de la naissance spontanée des organismes inférieurs et il a montré que la fermentation, la putréfaction sont causées par des êtres d'une petitesse extrême, mais qui, par leur nombre et leur multiplication rapide, produisent des effets de la plus haute puissance. Ces données, qui pouvaient, il y a quelques années seulement, être traitées de vues théoriques, sont aujourd'hui admises dans le domaine des faits indiscutables; elles ont conquis leur place dans les sciences positives et dorénavant les savants doivent compter avec elles.

Le sostanze infettive agiscono in quantità infinitesimali, dei milionesimi di milligrammi uccidono gli animali come sicuramente dei grammi, sebbene un po' meno rapidamente. Nell'azione dei veleni, i fenomeni provocati arrivano al loro massimo non appena la sostanza tossica viene assorbita, non vi è un periodo neutro, come si osserva dopo l'esposizione ai miasmi. Il semplice ragionamento ci conduce anche ad respingere l'ipotesi del veleno settico.

Non rimane dunque che l'ipotesi dei germi in oggetto, dei germi che possono riprodursi; per dare un senso ben preciso al nostro pensiero, non resta che la teoria parassitaria che possa esser applicata logicamente allo sviluppo e al contagio delle malattie infettive.

Grazie ai lavori di Pasteur, noi sappiamo che l'aria tiene in sospensione delle quantità innumerevoli di germi, che le correnti atmosferiche possono trasportare lontano e che si moltiplicano con una sorprendente rapidità non appena giungono in un luogo favorevole. Pasteur ha annientato la dottrina dell'origine spontanea degli organismi inferiori e ha mostrato che la fermentazione, la putrefazione sono causate da esseri microscopici, ma che attraverso il loro numero e la loro rapida moltiplicazione, producono effetti della più alta potenza. Questi dati, che potevano, fino a qualche anno fa solamente, essere trattati dal punto di vista teorico, sono oggi ammessi nel campo dei fatti indiscutibili; hanno conquistato il loro spazio nelle scienze positive e da ora in poi gli studiosi dovranno tenerne conto.

— 5 —

Mais ce n'est pas seulement sur les substances inertes ou mortes que les germes atmosphériques portent leur action. L'influence nocive des marais sur les êtres qui vivent près de leurs bords, la contagion à distance des maladies épidémiques, choléra, peste, etc., montrent l'action funeste que ces germes peuvent avoir sur les êtres vivants. La doctrine des germes a donc été transportée dans le domaine de la pathologie ; née d'hier, elle compte aujourd'hui un grand nombre de défenseurs, car les faits viennent chaque jour l'appuyer. Citons en quelques-uns.

Personne ne doute plus que le charbon soit causé par un parasite, la *bactérie* de Douanic, le *bacillus anthracis* de Cohn. La septicémie possède, elle aussi, sa cause vivante, on pourrait même dire ses causes, car il est facile de démontrer qu'il y a au moins deux formes de maladies septicémiques connues, qui se différencient par l'espèce de vibrion qui les produit. L'un de ces parasites a été étudié par MM. Pasteur et Joubert sous le nom de *vibrion septique*, et j'ai montré que, dans une maladie de nature septique provenant du cheval et inoculable à plusieurs animaux, il se trouve un microbe très petit qui peut se cultiver en dehors de l'économie et dont j'ai vu la multiplication sous le microscope et dans la chambre chaude. J'ai démontré qu'une maladie à marche extrêmement rapide, le *choléra des oiseaux de basse-cour*, est également le résultat de l'envahissement de l'économie par un être inférieur. Le microbe pur, cultivé dans des liqueurs artificielles, reproduit toujours la maladie chez les

Ma non è solamente sulle sostanze inerti o morte che i germi atmosferici esercitano la loro azione. L'influenza nociva delle paludi sugli esseri che vivono sulle loro rive, il contagio a distanza delle malattie epidemiche, colera, peste, etc... dimostrano che l'azione funesta che questi germi possono avere sugli esseri animati. La dottrina dei germi è stata dunque trasportata nel dominio della patologia; nata ieri, essa conta attualmente un gran numero di difensori perché i fatti le vengono in sostegno ogni giorno. Citiamone qualcuno.

Nessuno dubita ormai sul fatto che il carbonchio sia causato da un parassita, la *bactéridie* di Davaine il *bacillus anthracis* di Cohn. La setticemia possiede anch'essa, la sua causa vivente; si potrebbe anche dire le sue cause, poiché è facile dimostrare che vi sono almeno due forme di malattie setticemiche conosciute, le quali si differenziano per la specie dei vibroni dalle quali sono prodotte. Uno di questi parassiti è stato studiato dai Signori Pasteur e Joubert sotto il nome di vibrione settico, e ho mostrato che, in una malattia di natura settica proveniente dal cavallo e inoculabile a numerosi animali, è presente un microbo molto piccolo che si può coltivare al di fuori dell'ambiente e del quale ho visto la moltiplicazione al microscopio e nella camera calda. Ho dimostrato che una malattia a decorso estremamente rapido, il colera degli uccelli da cortile, è similmente il risultato dell'invasione dell'ambiente da parte di un essere inferiore. Il microbo puro, coltivato in liquidi artificiali, riproduce sempre la malattia negli

— 6 —

oiseaux. M. Pasteur, qui a bien voulu cultiver ce parasite, le signale depuis quelque temps comme une espèce bien distincte.

Les recherches de Heindeinreich, de Saint-Petersbourg, nous ont montré la fièvre relapse comme étant toujours accompagnée de la présence dans le sang d'un *spirillum*, découvert par Obermeyer en 1868, qui apparaît au commencement des accès et disparaît au moment où commencent les périodes apyrétiques.

On connaît donc aujourd'hui très nettement quatre ou cinq maladies de nature infectieuse qui peuvent être inoculées soit par l'insertion sous la peau, soit même par l'ingestion d'une petite quantité d'un liquide tenant en suspension les microbes.

Non seulement les êtres inférieurs peuvent transmettre la maladie lorsqu'on les prend d'un animal mort ou atteint pour les transplanter sur un animal sain, mais ils peuvent aussi végéter dans les liquides animaux ou artificiels, s'y reproduire indéfiniment et lorsqu'on les inocule causer la mort en reproduisant la maladie avec tous ses caractères.

Les cultures des êtres inférieurs, poussées au si grand degré de précision par M. Pasteur, nous permettent d'affirmer, à l'heure actuelle, que, pour les maladies infectieuses connues, il ne peut être invoqué aucune autre cause, de quelque nature qu'elle soit. Le parasite seul, sans adjonction de *matière morbifique*, produit la maladie par ses propriétés et sa multiplication. Nous ne voulons pas dire par là que, pendant sa reproduction dans

uccelli. il Signor Pasteur, che ha voluto coltivare questo parassita, lo segnala da qualche tempo come una specie ben distinta.

Le ricerche di Heindeireichi di San Pietroburgo, ci hanno mostrato la febbre relapsa come accompagnata sempre dalla presenza nel sangue di uno *spirillum* scoperto da Obermeyer nel 1868, il quale appare all'inizio degli attacchi e sparisce nel momento in cui cominciano i periodi apiretici.

Si conoscono dunque oggi molto nitidamente quattro o cinque malattie di natura infettiva che possono essere inoculate sia attraverso l'inserimento sotto la pelle, sia anche attraverso l'innesto di una piccola quantità di un liquido contenente i microbi in sospensione. Non solo gli esseri inferiori possono trasmettere la malattia quando li si preleva da un animale morto o affetto per trapiantarla in un animale sano, ma possono altresì vegetare nei liquidi animali o artificiali, ivi riprodursi indefinitamente e, qualora vengano inoculati, causare la morte riproducendo la malattia in tutti i suoi aspetti.

Le colture degli esseri inferiori, portate avanti con un così alto grado di precisione dal Signor Pasteur, ci permettono di affermare, allo stato attuale, che, per le malattie infettive conosciute, non può essere invocata nessun'altra causa di qualunque natura essa sia. Il solo parassita, senza aggiunta di *matière morbifique*, produce la malattia a causa delle sue proprietà e della sua moltiplicazione. Con ciò non vogliamo dire che, durante la sua riproduzione nell'ambiente, l'essere microscopico non dà origine ad alcun prodotto,

l'économie l'être microscopique ne donne naissance à aucun produit, ce qui serait contraire à toutes les données sur la nutrition ; il doit excréter certaines substances dont l'action est encore assez mal déterminée et qui jouent un certain rôle dans l'apparition des symptômes ; mais ce que les cultures de M. Pasteur ont parfaitement établi, c'est que le microbe pur, lavé et dégagé de tout adjonctif, reproduit la maladie, qu'elle est son œuvre exclusive, qu'on ne peut rien chercher en dehors de lui.

Des expériences poursuivies pendant longtemps nous montrent, en outre, que l'agent infectieux se reproduit indéfiniment sous les mêmes formes, quel que soit le milieu dans lequel on le place, pourvu qu'il y puisse vivre. Une série de plus de deux cent cinquante expériences avec le sang de rate, faites sur les animaux suivants : lapins, cobaye, moutons, chevaux, ânes, chiens, série plusieurs fois interrompue par des cultures dans différents milieux, sans qu'il eût été besoin de renouveler une seule fois la bactériologie à ses sources naturelles, nous montre son immutabilité.

Depuis qu'on l'a observé, le parasite du sang de rate s'est montré avec les mêmes caractères, aussi bien à la première observation de Rayer et Davaine en 1850 qu'aujourd'hui, et cela dans tous les pays ; il a été reproduit expérimentalement des milliers de fois, et jamais ses caractères n'ont changé.

Je considère cette remarque comme très importante, car elle est un argument de la plus grande valeur contre certaines théories soutenues par quelques auteurs alle-

cosa che sarebbe contraria a tutti i dati sulla nutrizione; esso deve secernere certe sostanze, la cui azione è ancora abbastanza indeterminata, che giocano un certo ruolo nell'apparizione dei sintomi; ma ciò che le colture del Signor Pasteur hanno perfettamente stabilito, è che il microbo puro, lavato e liberato da ogni coadiuvante, produce la malattia, in quanto è ciò e null'altro è sua opera esclusiva.

Degli esperimenti continuati per lungo tempo ci mostrano, inoltre, che l'agente infettivo si riproduce indefinitamente nelle stesse forme, qualunque sia il mezzo in cui lo si collochi, sistemato in modo tale che vi possa vivere. Una serie di più di 250 esperimenti con il sangue di milza, condotti sugli animali seguenti: conigli, cavie, pecore, somari, cani, serie più volte interrotta da colture in differenti luoghi, senza che ci fosse stato bisogno di rinnovare una sola volta la *bactéridie* alle proprie origini naturali, ci mostra l'immutabilità di questo microbo. Dopo che lo si è osservato, il parassita del carbonchio si è presentato con le stesse caratteristiche, sia alla prima osservazione di Rayer e Davaine nel 1850 sia oggi, e ciò in tutti i paesi; ciò è stato riprodotto in modo sperimentale migliaia di volte e mai le sue caratteristiche sono cambiate.

Io considero questa osservazione come estremamente importante, perché questo è un argomento di enorme valore contro certe teorie sostenute da alcuni autori

— 8 —

mands, notamment par Nägeli, qui ne voudraient voir dans les maladies infectieuses que des effets différents causés par un très petit nombre d'espèces ou même par une seule espèce polymorphe. L'observation démontre qu'on peut rencontrer des résultats très différents causés par le même germe vivant dans des espèces diverses; c'est même à cela que sont dues les divergences entre les pathologistes au sujet des symptômes; mais ces divergences ne peuvent-elles s'expliquer par des défauts de similitude dans les conditions de vie des microbes? Ces êtres d'une petitesse extrême doivent se mettre rapidement en rapport avec le milieu dans lequel ils vivent et modifier leur composition suivant les aliments dont ils se nourrissent; leurs excréta doivent aussi se modifier par la même raison. Or ces diverses transformations se font aux dépens de l'individu qui héberge le parasite; il peut donc se produire des lésions différentes suivant les animaux. Mais quant au microbe lui-même, il conserve son individualité et se reproduit indéfiniment dans sa forme.

Si des maladies infectieuses nous passons aux maladies virulentes, nous sera-t-il permis de leur appliquer le même raisonnement? Depuis les travaux de mon savant maître, M. Chauveau, sur les maladies virulentes, la morve, la variole, la chavelée, semblent par leur nature se rapprocher beaucoup des maladies infectieuses. Dans ces maladies, M. Chauveau a démontré que l'élément virulent, le germe, ainsi qu'il l'appelle, est un élément solide. Les liquides n'ont aucune part à la transmission des maladies; or ce germe comment prend-il naissance?

tedeschi, in modo particolare da Nägeli, che non vorrebbero vedere nelle malattie infettive che differenti effetti causati da un piccolissimo numero di specie o anche da una sola specie polimorfa. L'osservazione mostra che si possono osservare dei risultati molto diversi causati dallo stesso germe vivente in diverse specie; è a ciò che sono dovute le divergenze tra i patologi sul tema dei sintomi; ma queste divergenze non possono essere spiegate attraverso l'assenza di similitudine nelle condizioni di vita dei microbi? Questi esseri di una piccolezza estrema devono mettersi rapidamente in rapporto con l'ambiente in cui vivono e modificare la loro composizione secondo gli alimenti di cui si nutrono; anche ciò che secernano deve modificarsi per le stesse ragioni. Ora, queste diverse trasformazioni avvengono a spese dell'individuo in cui alberga il parassita; possono dunque prodursi delle differenti lesioni a seconda degli animali. Ma per quanto riguarda il microbo stesso, esso conserva la sua individualità e si riproduce infinitamente nella propria forma.

Se dalle malattie infettive noi passiamo alle malattie virulente, ci sarà permesso di applicare loro lo stesso tipo di ragionamento? Dai lavori del mio saggio maestro, il Signor Chauveau, sulle malattie virulente, la morva, il vaiolo, il vaiolo di ovino, sembrano per la loro natura conciliarsi molto con le malattie infettive. In queste malattie, il Signor Chauveau ha dimostrato che l'elemento virulento, il germe, così si chiami, è un elemento solido. I liquidi non hanno nessun ruolo nella trasmissione delle malattie; ora, questo germe come nasce?

— 9 —

M. Chauveau pense que les particules figurées, virulentes, proviennent du protoplasma mis en rapport avec les éléments qui ont été apportés du dehors. Mais, lorsqu'on arrive à des particules de ces dimensions, il devient extrêmement difficile de dire si l'on a affaire à des corps organisés ou à des débris de cellule ; toutes ces particules sont animées de mouvements browniens ; leur forme exacte n'est pas encore connue, et s'il est difficile de les ranger dans les êtres doués de vie, il n'est pas plus certain qu'ils ne constituent que des amas de molécules organiques. Le Dr Burdon Sanderson lui-même, qui est un de ceux qui ont le plus contribué à faire connaître les corpuscules figurés dans les maladies infectieuses, hésite à leur attribuer l'une ou l'autre nature : « Tout ce qu'on peut dire est qu'ils sont mitoyens aux choses non vivantes et aux êtres vivants. »

Mais si ces particules n'ont aucune structure appréciable au microscope, il n'en est pas moins démontré que, placées dans des conditions favorables à leur développement, elles se multiplient avec une grande rapidité, et qu'elles reproduisent les mêmes maladies. Nous dirons donc, avec Tyndall, que « des particules qui, par les progrès de leur développement, arrivent à produire des corps si différents les uns des autres par leurs propriétés, doivent avoir des différences de structure, et puisqu'elles ont des différences de structure, elles doivent avoir la chose différenciée, c'est-à-dire la structure. »

Les maladies virulentes peuvent donc aussi rentrer dans la catégorie des maladies infectieuses. Leur étude

Il Signor Chauveau pensa che le particelle rappresentate, virulente, provengono dal protoplasma messo in rapporto con gli elementi che sono stati apportati dall'esterno. Ma non appena si arriva a particelle di queste dimensioni, diviene estremamente difficile dire se si ha a che fare con dei corpi organizzati oppure con dei resti di cellule: tutte queste particelle sono animate da movimenti browniani; la loro forma esatta non era ancora conosciuta e se è difficile annoverarli tra gli esseri dotati di vita, non è più sicuro che essi non costituiscono che degli ammassi di molecole organiche. Il dottor Burdon Sanderson stesso, che è uno di coloro i quali hanno maggiormente contribuito a fare conoscere i corpuscoli rappresentati nelle malattie infettive, esita ad attribuire loro l'una o l'altra natura: «Tutto ciò che si può dire è che essi sono comuni alle cose non viventi e agli esseri viventi».

Ma se queste particelle non hanno alcuna struttura valutabile al microscopio, non è meno dimostrato che, messi in condizioni favorevoli al loro sviluppo, esse si moltiplicano con gran rapidità e riproducono le stesse malattie. Diremo dunque con Tyndall, che «delle particelle che, per il progresso del proprio sviluppo, arrivano a produrre dei corpi così differenti gli uni dagli altri per le loro proprietà, devono avere delle differenze di struttura e poiché hanno delle differenze di struttura esse devono avere la cosa differenziata, vale a dire la struttura».

Le malattie virulente possono dunque rientrare nella categoria delle malattie infettive.

— 10 —

comporte les mêmes méthodes et les mêmes procédés.

S'il nous est difficile aujourd'hui, avec les moyens dont nous disposons, d'étudier les organismes d'une petitesse extrême dans les maladies où ils sont réduits à des points, à des sphérules d'une dimension presque inappréciable, il n'en est pas de même pour quelques-uns, qui se montrent avec une taille et des propriétés très faciles à mettre en évidence. A cet égard le choléra des oiseaux de basse-cour et le charbon constituent de véritables types pour l'initiation à cette étude. La bactériidie du charbon en particulier est très facile à suivre dans toutes les phases de son développement; sous l'influence de la culture, elle atteint des dimensions considérables. Semée dans l'économie, elle laisse des traces très évidentes de son passage dans tous les points qu'elle a traversés; les lésions sont nettes, facilement appréciables. Elle se désigne donc tout naturellement à l'étude, car, indépendamment de l'intérêt particulier qu'il y a à connaître exactement le parasite du charbon dans ses modes de manifestation dans l'organisme et dans les conditions de son existence au dehors, ces faits constitueraient, pour l'étude des maladies infectieuses, des données utiles, une sorte de programme pouvant mettre sur la voie de découvertes d'une haute importance.

Les recherches que nous avons eu soin d'entreprendre dans les lieux mêmes où le charbon naît spontanément nous ont déjà démontré que sa transmission naturelle ne diffère pas de la transmission artificielle opérée dans les laboratoires. Le germe du charbon pénètre chez

Il loro studio comporta gli stessi metodi e gli stessi procedimenti. Se per noi è difficile oggi, con i mezzi di cui disponiamo, studiare gli organismi di una piccolezza estrema nelle malattie in cui si sono ridotti a dei punti, a delle sfere di una dimensione quasi impercettibile, non è lo stesso per alcuni che si mostrano con una dimensione e delle proprietà molto facili da mettere in evidenza. A questo riguardo, il colera degli uccelli da cortile e il carbonchio costituiscono delle tipologie veritiere per l'inizio di questi studi. Il batterio del carbonchio in particolare è molto facile da seguire in tutte le fasi del suo sviluppo; sotto l'influenza della coltura, essa raggiunge delle dimensioni considerevoli. Seminata nell'ambiente, quella lascia delle tracce molto evidenti del suo passaggio in tutti i punti che ha attraversato; le lesioni sono nette e facilmente definibili. Essa è adatta dunque naturalmente allo studio perché, indipendentemente dall'interesse particolare che vi è nel conoscere esattamente il parassita del carbonchio nelle sue modalità di manifestarsi nell'organismo e nelle condizioni della sua esistenza all'esterno, questi fatti costituiranno per lo studio delle malattie infettive, dei dati utili; una sorta di programma che può mettere sulla via di scoperte di estrema importanza.

Le ricerche che noi abbiamo avuto cura di intraprendere nei luoghi stessi in cui il carbonchio nasce spontaneamente, ci hanno già dimostrato che la sua trasmissione naturale differisce dalla trasmissione artificiale praticata nei laboratori.

— 11 —

les animaux atteints par des voies artificielles, par des plaies de la bouche ou du pharynx, et il est apporté là par les insectes. Il reste, pour que son histoire soit complète, à rechercher par quels moyens ces germes se conservent dans quelles conditions ils se trouvent avant de pénétrer dans l'organisme. Lorsque tous ces termes du problème seront connus, le remède, il faut l'espérer, sera découvert, nous en avons pour garant le succès qui couronne les efforts de M. Pasteur dans ses recherches sur les maladies des vers à soie.

Il germe del carbonchio penetra negli animali affetti per vie artificiali, per mezzo di ferite alla bocca o alla faringe

.....
.....
.....
.....
.....

noi ne abbiamo per garante il successo che dato dagli sforzi del signor Pasteur nelle ricerche delle malattie dei bachi da seta.

II

DE LA NATURE PARASITAIRE DU CHARBON

A l'heure actuelle, tous les pathologistes sont convaincus de la nature parasitaire du charbon, et il peut paraître superflu d'en faire encore la démonstration. Cependant, il y a deux ans, à l'époque de mes premières recherches sur cette maladie, les résultats de M. Pasteur et ceux que j'obtins moi-même ne furent pas acceptés sans protestation. Peut-être se rencontre-t il encore de rares partisans des doctrines opposées; c'est pour eux que je crois bon d'exposer ici quelques expériences qui me paraissent venir à l'appui de la théorie parasitaire.

La méthode des cultures successives, imaginée par M. Pasteur, est certainement suffisante pour résoudre la question de la nature parasitaire. Quand, après avoir cultivé la bactérie dans des liquides artificiels successivement jusqu'à douze fois, on parvient à développer la maladie avec le produit de la dernière culture, la preuve est faite; et pour nier, comme l'a fait M. Colin, le bien fondé des conclusions de M. Pasteur, il faut avoir pour

II

SULLA NATURA PARASSITARIA DEL CARBONCHIO

Allo stato attuale, tutti i patologi sono convinti della natura parassitaria del carbonchio, e può sembrare superfluo farne ancora una dimostrazione. Tuttavia, due anni fa, all'epoca delle mie prime ricerche su questa malattia, i risultati del Signor Pasteur e quelli da me stesso ottenuti non furono accettati senza proteste. Forse vi sono ancora pochi partigiani delle opposte dottrine; è per questi che credo sia bene esporre qui alcuni esperimenti, che mi sembrano venire in appoggio alla teoria parassitaria.

Il metodo delle colture successive, immaginato dal Signor Pasteur è sicuramente sufficiente per risolvere la questione della natura parassitaria.

Quando, dopo aver coltivato la *bactéridie* nei liquidi artificiali successivamente fino a 12 volte, si arriva a sviluppare la malattia con il prodotto dell'ultima coltura, la prova è fatta; e per negare, come ha fatto il Signor Colin, le ben fondate conclusioni del Signor Pasteur,

— 32 —

les expériences des autres une sévérité que l'on est loin de montrer dans les recherches contradictoires.

Avant que M. Pasteur publiât ses recherches si précises sur la culture des bactériidies, un auteur allemand, M. Bollinger, dont Zundel¹ avait adopté les conclusions, avait déjà écrit que les bactériidies du charbon empruntent l'oxygène dont elles ont besoin au sang de l'animal chez lequel elles se développent et, par leur multiplication, le privent de cet élément essentiel; de là les phénomènes de dyspnée, cyanose, d'abaissement de température, et la similitude qui existe entre le charbon et l'asphyxie sous le rapport des symptômes et des lésions. Mais c'était là une vue théorique découlant uniquement de l'examen du sang charbonneux et de la comparaison du nombre relatif des globules et des bactériidies. Aucune expérience directe n'était venue la confirmer. Il fallait, pour arriver à des conclusions de cette nature, montrer que, pour vivre, les bactériidies réclament de l'oxygène et que l'acide carbonique les tue: c'est ce qu'ont fait MM. Pasteur et Joubert.

J'ai moi-même donné, à l'appui de la nature parasitaire du charbon et de l'asphyxie chimique qui résulte de l'avidité des bactériidies pour l'oxygène, un certain nombre de faits expérimentaux qui ont été exposés dans une Note à l'Académie des sciences le 14 août 1877. Quoique des recherches ultérieures m'aient porté à modifier dans une certaine mesure les conclusions de cette Note, je la donne ici sans y rien changer, me réservant de reve-

¹ *Dictionnaire de méd. de chir. et d'hyg. vët.*, par Hurthrel d'Arbonal, 2^e ed. Zundel, art. Charbon. Paris, 1874.

bisogna avere nei confronti degli esperimenti degli altri una severità che si è ben lontani dal mostrare nelle ricerche contraddittorie. Prima che Pasteur pubblicasse le sue ricerche così precise sulla coltura delle *bactéridies*, un autore tedesco Bollinger, del quale Zundel aveva adoperato le conclusioni, aveva già scritto che i batteri del carbonchio traggono l'ossigeno di cui hanno bisogno dal sangue dell'animale in cui esse si sviluppano, e attraverso la loro moltiplicazione, lo privano di questo elemento essenziale; da qui i fenomeni di dispnea, cianosi, abbassamento della temperatura e la somiglianza che esiste tra il carbonchio e l'asfissia in rapporto ai sintomi e alle lesioni. Ma vi era là una veduta teorica che scaturiva unicamente dall'esame del sangue carbonchioso e dalla comparazione del numero relativo dei globuli e delle *bactéridies*. Nessun esperimento diretto la confermava. Occorreva, per arrivare a delle conclusioni di questa natura, dimostrare che per vivere i batteri esigono l'ossigeno e che l'acido carbonico li uccidono: è ciò che hanno fatto i Signori Pasteur e Joubert.

Io stesso ho contribuito, a sostegno della natura parassitaria del carbonchio e dell'asfissia chimica che risulta dall'avidità delle *bactéridies* per l'ossigeno, conducendo un certo numero di esperimenti che sono stati esposti in una Nota all'Accademia delle scienze il 14 agosto 1877. Nonostante ulteriori ricerche mi hanno portato a modificare in una certa misura le conclusioni di questa Nota, la riporto qui senza nulla cambiarvi, riservandomi di tornare sui punti che sono stati modificati grazie agli esperimenti fatti più tardi.

nir sur les points qui ont été modifiés par les expériences faites plus tard.

Le 31 mars 1875, M. Chauveau me remit deux flacons renfermant : l'un une tumeur abdominale, l'autre un morceau de la rate provenant d'un mouton mort du charbon (sang de rate), qui lui avaient été envoyés par M. Joly, vétérinaire à Gien. Lorsque je reçus ces pièces, elles avaient déjà une légère odeur putride.

Première série d'expériences. — J'inoculai immédiatement, par une piqûre à l'aine, un lapin (n° 1) avec le sang provenant de la rate. Ce lapin meurt 69 heures après l'inoculation, et l'examen du sang fait voir de nombreuses bactériidies dans tous les points examinés et surtout dans la rate.

Un autre lapin (n° 2), inoculé avec le sang de la tumeur abdominale, ne présente rien d'anormal : il vivait encore dix jours après.

Un mouton en parfaite santé, inoculé avec le sang de la rate et de la tumeur abdominale, présenta dès le lendemain un état fébrile assez intense, et resta malade pendant cinq à six jours. Le 17 avril, le mouton était encore souffrant ; néanmoins il guérit. L'examen du sang, fait à plusieurs reprises, ne montra aucune bactériidie.

Avec le sang frais du lapin n° 1, j'inoculai un autre lapin (n° 6 du cahier d'expériences) qui mourut en 22 heures ; un autre lapin (n° 7), inoculé immédiatement après la mort du n° 6, et avec le sang de ce dernier, meurt en 23 heures.

Le sang du n° 7, inoculé au n° 9, tue ce dernier en 29 heures.

Avec le sang du n° 9, on inocule trois lapins :

Deux immédiatement, les n° 11 et 12, qui meurent, l'un en 22 heures, l'autre en 25 heures ; le troisième (n° 10), inoculé 15 heures seulement après la mort du n° 9, résiste pendant 70 heures.

En comparant ces expériences, on peut voir que la mort de ces animaux (qui étaient tous de la même portée, par conséquent de même force) arrive en un espace de temps plus ou moins long. Lorsque le sang est frais, n° 6, 7, 11 et 12, la mort est rapide, elle arrive en un temps qui varie de 22 à 25 heures. (Dans un certain nombre d'autres inoculations, nous avons pu voir que ce temps peut être dépassé, mais il est rare que la durée de la vie soit de plus de 35 à 40 heures.)

Il 31 marzo 1875 il Signor Chauveau mi rimandò due flaconi contenenti: il primo un tumore addominale, l'altro un pezzo di milza proveniente da una pecora morta di carbonchio (sangue di milza), che gli erano state inviate dal signor Joly, veterinario a Gien. Nel momento in cui io ho ricevuto questi elementi avevano già un leggero odore putrido.

Prima serie di esperimenti - Inoculai subito, attraverso una puntura all'inguine, un coniglio (n.1) con il sangue proveniente dalla milza. Questo coniglio morì 69 ore dopo l'inoculazione, e l'esame del sangue mostrò numerose *bactéridies* in tutti i punti esaminati e soprattutto nella milza.

Un altro coniglio(n. 2), inoculato con il sangue del tumore addominale, non presentò niente di anormale: era ancora vivo dieci giorni dopo.

Una pecora in perfetta salute, inoculata con il sangue della milza e del tumore addominale, presentò all'indomani uno stato febbrile abbastanza intenso, e rimase malata per 5 - 6 giorni. Il 17 aprile, la pecora era ancora sofferente, ciononostante guarì. L'esame del sangue, fatto a più riprese, non mostrò alcuna *bactéridie*.

Con il sangue fresco del coniglio n.1, inoculai un altro coniglio (n. 6 del quaderno degli esperimenti) che morì entro 22 ore; un altro coniglio (n. 7), inoculato subito dopo la morte del n. 6, e con il sangue di quest'ultimo, morì in 23 ore.

Il sangue del n. 7, inoculato al n. 9, uccise quest'ultimo in 29 ore.

Con il sangue del n. 9 si inocularono 3 conigli: due immediatamente, i numeri 11 e 12, che morirono rispettivamente in 22 e 25 ore; il terzo (n. 10) inoculato solamente quindici ore dopo la morte del n. 9, resistette per 70 ore.

Comparando questi esperimenti, si può vedere che la morte di questi animali (che erano tutti della stessa portata, di conseguenza della stessa forza) arriva in un lasso di tempo più o meno lungo.

Quando il sangue è fresco, n. 6, 7, 11 e 12, la morte è rapida, e arriva in un tempo che varia dalle 22 alle 25 ore. (In un certo numero di altre inoculazioni, noi abbiamo potuto vedere che questo tempo può essere superato, ma è raro che la durata della vita sia maggiore del lasso di tempo che va dalle 35 alle 40 ore.

— 34 —

Si, au contraire, le sang a subi un commencement de putréfaction, la mort arrive beaucoup plus tard, ordinairement de la 50^e à la 75^e heure ; pour les sujets n^{os} 1 et 10, vers la 70^e heure.

J'eus alors l'idée de chercher à cultiver la bactériodie, car j'avais pu remarquer que, lorsqu'on examine le sang d'animaux morts depuis un certain temps, les bactériodies semblent crénelées, puis que bientôt elles se désagrègent et donnent naissance à de petits corps ovoïdes ou arrondis, isolés ou géminés, et que néanmoins, à ce moment, le sang inoculé transmet à coup sûr le charbon.

Je résolus de cultiver les bactériodies à l'abri de l'air, par conséquent de la putréfaction, tout en conservant, comme témoin, du sang charbonneux, abandonné à lui-même dans le cadavre de l'animal, ou bien placé dans une étuve et renfermé dans un flacon non bouché.

Pour recueillir le sang et me mettre à l'abri de l'air, j'usai d'un moyen qui m'avait été indiqué par M. Chauveau. On prend de petits ballons de verre mince de la capacité de 2 centimètres cubes environ, dont on étire le goulot très finement. Pour faire le vide dans ces ballons, on les remplit d'eau distillée qu'on fait ensuite bouillir sur une lampe à alcool ; au moment où les dernières gouttes se vaporisent, on ferme au chalumeau l'extrémité effilée.

Lorsqu'on veut remplir ces ballons, on fait une petite ouverture à une veine, préalablement liée du côté du cœur ; on introduit l'extrémité effilée et fermée dans le vaisseau, puis on la casse avec l'ongle à travers la paroi vasculaire. Le ballon se remplit immédiatement ; on ferme à la lampe, et on peut conserver ainsi le sang indéfiniment sans qu'il se putréfie.

Des tubes ainsi recueillis, les uns étaient placés dans une étuve dont la température était de 38 à 39 degrés ; les autres étaient conservés dans le laboratoire à la température de 15 à 18 degrés.

Voici les résultats que j'obtins avec le sang placé dans ces diverses conditions :

Deuxième série d'expériences. — Au moment où le lapin n^o 12 de la première série rendait le dernier soupir, je recueille quatre ballons de sang ; deux sont placés dans l'étuve, les deux autres conservés dans le laboratoire. De plus, on inocule immédiatement le n^o 13.

Le n^o 13 meurt en 32 heures.

Se, al contrario, il sangue ha subito un inizio di putrefazione, la morte arriva molto più tardi di solito tra la 50^a e la 75^a ora; per i soggetti n. 1 e 10, verso la settantesima ora.

Ebbi allora l'idea di cercar di coltivare la *bactéridie*, perché avevo potuto osservare che, quando si esamina il sangue di animali morti da un certo tempo, le *bactéridies* sembrano crenate, dopodiché presto si disgregano e danno origine a dei piccoli corpi ovali o rotondi, isolati o gemmati, e che, nondimeno, in questo momento il sangue inoculato trasmette certamente il carbonchio.

Decisi di coltivare le *bactéridies* al riparo dall'aria, di conseguenza dalla putrefazione, conservando, come campione, del sangue carbonchioso, lasciato nel cadavere dell'animale, e messo ancor meglio in un forno e rinchiuso in un flacone non tappato.

Per raccogliere il sangue e metterlo al riparo dall'aria, ho usato un metodo che mi era stato indicato da Chauveau. Si prendono delle piccole boccette di vetro sottile dalla capacità di due cm³ circa, delle quali si allunga il collo molto delicatamente. Per fare il vuoto in queste boccette, le si riempie di acqua distillata che successivamente si fa bollire su una lampada ad alcool; nel momento in cui le ultime gocce evaporano, si chiude col cannello l'esile estremità.

Quando si vogliono riempire queste boccette, si fa una piccola apertura in una vena, preferibilmente collegata vicino al cuore; si introduce l'estremità affilata e chiusa nei vasi, poi la si rompe con l'unghia attraverso la parete vascolare. La boccetta si riempie subito; si chiude e si può conservare il sangue indefinitamente senza che vada in putrefazione.

Raccolsi anche dei tubi, alcuni collocati in un forno la cui temperatura era tra i 38° ed i 39°; gli altri conservati nel laboratorio ad una temperatura tra i 15° ed i 18°.

Ecco i risultati che ottenni con il sangue messo in due diverse condizioni:

SECONDA SERIE D'ESPERIMENTI - Nel momento in cui il coniglio n. 12 della prima serie esalava l'ultimo respiro, raccolsi quattro boccette di sangue; due sono messe nel forno, le altre conservate nel laboratorio. Inoltre viene inoculato immediatamente il n. 13.

Il numero 13 muore in 32 ore.

-- 35 --

Le 15 avril (102 heures après avoir recueilli le sang du ballon) on inocule :

Le n° 16 avec le sang du ballon de l'étuve. — Résultat négatif.

Le n° 17 avec le sang du ballon du laboratoire — Le lapin meurt en 63 heures.

Dans cette série, nous voyons le sang d'un animal chargé de bactériidies tuer un lapin en 32 heures; ce même sang, quatre jours après, conservé à l'abri de l'air et de la putréfaction, mais à une température peu élevée, demande 63 heures pour amener le même résultat. Ce sang, enfin, conservé à la température du corps, est demeuré inactif.

Troisième série d'expériences. — Le sang du n° 13 nous fournit des ballons qui sont placés dans les mêmes conditions que les premiers; nous plaçons de plus un morceau de rate dans l'étuve, et le cadavre est abandonné dans une partie réservée du laboratoire, à une température de 10 à 11 degrés.

N° 14. — Inoculé 58 heures après la mort du n° 13 avec du sang pris dans la jugulaire du cadavre, meurt 38 heures après l'inoculation.

N° 15. — Inoculé 68 heures après avec le sang d'un des ballons de l'étuve, meurt en 70 heures.

N° 19. — Inoculé 75 heures après avec le sang pris dans la veine cave du cadavre déjà en putréfaction, reste bien portant.

N° 20. — Inoculé 75 heures après avec le sang d'un tube de l'étuve, reste bien portant.

N° 21. — Inoculé après 75 heures avec le sang de la rate placé dans l'étuve, lequel est entièrement putride, *reste bien portant*.

N° 22. — Inoculé après 75 heures avec le sang d'un ballon conservé dans le laboratoire, meurt en 60 heures.

Ces résultats sont identiques à ceux de la première série. Le sang conservé à l'abri de l'air, mais à la température du laboratoire, donne encore la mort lorsque ce même sang, placé dans un milieu dont la température est plus élevée, ou bien abandonné à la putréfaction, est devenu incapable de transmettre le charbon. Quelle est donc la cause des résultats différents obtenus par ces inoculations ?

S'il est assez difficile de conclure en face d'expériences aussi

Il 15 aprile (102 ore dopo aver raccolto il sangue dalla boccetta) si inocula:

Il n. 16 con il sangue della boccetta del forno. Risultato negativo.

Il n. 17 col sangue della boccetta del laboratorio. Il coniglio muore in 63 ore. In questa serie, noi vediamo il sangue di un animale carico di *bactéridies* uccidere un coniglio in 32 ore; questo stesso sangue, quattro giorni dopo, conservato al riparo dall'aria e dalla putrefazione, ma ad una temperatura poco elevata, richiede 63 ore per produrre lo stesso risultato. Questo sangue infine conservato alla temperatura del corpo, è rimasto inattivo.

TERZA SERIE DI ESPERIMENTI - il sangue del n. 13 ci fornisce delle boccette che vengono messe nelle stesse condizioni dei primi; mettiamo inoltre un pezzo di milza nel forno ed il cadavere viene lasciato in una parte riservata del laboratorio, ad una temperatura di 10° - 11°.

N. 14 - Inoculato 58 ore dopo la morte del n. 13 con del sangue preso dalla giugulare del cadavere, muore 38 ore dopo l'inoculazione.

N. 15 - Inoculato 68 ore dopo con il sangue di una delle boccette del forno, muore in 70 ore.

N. 19 - Inoculato 75 ore dopo col sangue preso dalla vena cava del cadavere già in putrefazione, resta sano.

N. 20 - Inoculato 75 ore dopo la morte col sangue di un tubo del forno, resta sano.

N. 21 - Inoculato dopo 75 ore con il sangue di milza messo nel forno interamente putrido, resta sano.

N. 22 - inoculato dopo 75 ore col sangue di una boccetta conservato in laboratorio, muore in 60 ore.

Questi risultati sono identici a quelli della prima serie. Il sangue conservato al riparo dall'aria, ma alla temperatura del laboratorio, provoca ancora la morte, mentre questo stesso sangue, messo in un luogo in cui la temperatura è più elevata, o meglio lasciato alla putrefazione, è divenuto incapace di trasmettere il carbonchio. Qual è dunque la causa dei differenti risultati ottenuti attraverso queste inoculazioni? Se è abbastanza difficile trarre conclusioni in base agli esperimenti

peu nombreuses, elles sont néanmoins suffisantes pour mettre sur une voie toute nouvelle. Voici comment je les avais interprétées :

Au moment de la mort, et avant que la putréfaction se soit emparée du cadavre des animaux charbonneux, les bactériidies ont toute leur force ; qu'elles soient à l'état de bactériidies ou de spores, elles donnent, à coup sûr, la mort. La putréfaction les tue, ainsi que l'a démontré M. Davaine.

Mais si elles sont conservées à l'abri de l'air et, par conséquent, de la putréfaction, les bactériidies n'en meurent pas moins en un temps assez court, car elles ont bientôt absorbé l'oxygène du milieu dans lequel elles se trouvent, et elles meurent asphyxiées. Cette asphyxie des bactériidies arrive d'autant plus vite qu'elles se trouvent dans un milieu dont la température est plus élevée (le sang des ballons de l'étuve conserve son activité moins longtemps que celui du laboratoire), ce qui tient probablement à une consommation plus grande d'oxygène.

J'avais tiré de ces réflexions une théorie de l'action des bactériidies que j'ai souvent exposée à mes amis et qui se trouve conforme à celle de M. Pasteur. La voici :

Les bactériidies sont des corps très avides d'oxygène ; elles tuent l'animal en absorbant toute la quantité de ce gaz qui est en dissolution avec le sang ; elles tuent l'animal par asphyxie. Depuis ce temps, j'ai été souvent frappé par la similitude qui existe entre les lésions du charbon et celles d'une asphyxie lente, comme celle qui est causée par le météorisme, par exemple.

La conception de la mort par asphyxie dans les maladies charbonneuses, rend parfaitement compte des symptômes observés chez les animaux inoculés. Ceux-ci, pendant toute la durée du temps qui s'écoule entre le moment de l'inoculation et les dernières heures de la vie, ne paraissent pas malades ; mais, au dernier moment, les phénomènes apparaissent, s'aggravent, se multiplient avec une rapidité étonnante, et la mort arrive.

Cette rapidité dans la succession des phénomènes graves a eu pour résultat de propager cette erreur que le charbon tue en quelques heures ; en réalité, il a dû se passer un temps, plus ou moins long, pendant lequel l'animal était sous le coup de la maladie sans en manifester les symptômes.

Voici comment il me semble que l'on doit expliquer ces phénomènes.

anche poco numerosi, essi sono nondimeno sufficienti per metterci su una via del tutto nuova. Ecco come io li ho interpretati:

Al momento della morte, e prima che la putrefazione si sia impadronita del cadavere degli animali carbonchiosi, le *bactèridies* hanno tutta la loro forza; che siano allo stato di batteri o di spore, danno a colpo sicuro la morte. La putrefazione li uccide, come ha dimostrato Davaine. Ma se questi batteri sono conservati, al riparo dall'aria, e di conseguenza dalla putrefazione, i batteri muoiono comunque in un tempo abbastanza breve perché hanno assorbito l'ossigeno del luogo in cui si trovano e muoiono asfissati. Questa asfissia dei batteri arriva tanto velocemente rispetto a quei batteri che si trovano in un luogo in cui la temperatura è più elevata (il sangue delle boccette del forno conserva la sua attività per meno tempo rispetto a quello del laboratorio) e ciò è dovuto probabilmente ad un consumo più grande di ossigeno.

Ho tratto da queste riflessioni una teoria dell'azione delle *bactèridies* che ho spesso esposto ai miei amici e che si mostra conforme alla teoria del signor Pasteur. Eccola qui:

I batteri del carbonchio sono dei corpi molto avidi di ossigeno; questi uccidono l'animale assorbendo tutta la quantità di questo gas che è in soluzione col sangue; i batteri uccidono l'animale per asfissia. Dopodichè, sono rimasto spesso colpito per la similitudine che esiste tra le lesioni del carbonchio e quelle di una lenta asfissia. come quella che è causata dal meteorismo, per esempio.

La concezione della morte per asfissia nelle malattie carbonchiose rende perfettamente conto dei sintomi osservati negli animali inoculati. Questi stessi durante tutto il periodo che intercorre tra il momento dell'inoculazione e le ultime ore di vita, non sembrano malati; ma all'ultimo momento manifestano, i fenomeni si manifestano, si aggravano, si moltiplicano con sorprendente rapidità e arriva la morte. Questa rapidità nella successione dei gravi fenomeni ha avuto come risultato quello di propagare l'errore di credere che il carbonchio uccida in poche ore; in realtà, è dovuto passare un tempo più o meno lungo da quando l'animale era in balia della malattia senza manifestarne i sintomi. Ecco come mi sembra che si debbano spiegare questi fenomeni.

-- 37 --

Immédiatement après l'inoculation, le nombre des bactériidies mélangées au sang est très petit ; il y en a à peine quelques-unes dans les premières heures, et des recherches très minutieuses n'en font souvent découvrir aucune. Aussi la quantité d'oxygène qu'elles absorbent à ce moment peut-elle être considérée comme nulle ; mais, ainsi que le pense M. Davaine, elles se multiplient suivant une progression géométrique, et la quantité d'oxygène absorbée par elles suit cette progression. Dans les derniers temps le nombre des bactériidies croît avec une rapidité effrayante, et bientôt les symptômes s'accusent en raison directe de ce nombre. Enfin l'animal meurt lorsque les bactériidies sont assez nombreuses pour absorber tout l'oxygène introduit à chaque inspiration ; l'accélération des mouvements respiratoires ne fait que retarder la mort de quelques instants.

A ces expériences j'en ai ajouté d'autres qui me paraissent plus concluantes. M. Pasteur ayant filtré le sang charbonneux sur du plâtre, a vu que le liquide filtré ne donne plus le charbon, tandis que la partie du sang restée sur le filtre est extrêmement contagieuse. Cette méthode que j'ai plusieurs fois employée ne laisse absolument passer que la partie liquide du sang ; on ne rencontre dans la substance filtrée aucune granulation organique, si petite qu'elle soit. Or, M. Chauveau a démontré que les propriétés contagieuses des humeurs virulentes appartiennent exclusivement à leurs particules figurées ; s'il en est ainsi pour le charbon, le résultat de la filtration par le plâtre n'a rien d'inattendu ; mais il n'élucide pas la question de savoir dans quels éléments réside la propriété contagieuse. Il fallait donc trouver un mode de séparation qui laissât passer les granulations tout en arrêtant les bactériidies.

Une première filtration sur quatre feuilles de papier fin exactement appliquées l'une sur l'autre laissait voir

Subito dopo l'inoculazione, il numero di *bactéridies* mischiate al sangue è molto piccolo; ce n'è qualcuno appena nelle prime ore e ricerche molto minuziose non ne hanno spesso scoperto alcune. Anche la quantità di ossigeno che esse assorbono, in questo momento può essere considerata come nulla; ma comunque la pensi il Signor Davaine, le *bactéridies* si moltiplicano secondo una progressione geometrica e la quantità di ossigeno da esse assorbita segue questa progressione. Negli ultimi istanti il numero delle *bactéridies* cresce con una rapidità formidabile e presto si accusano i sintomi in ragione diretta di questo numero. Infine l'animale muore quando i batteri sono abbastanza numerosi per assorbire tutto l'ossigeno introdotto ad ogni inspirazione; l'accelerazione dei movimenti respiratori non fa che ritardare la morte di qualche istante.

A questi esperimenti ne ho aggiunto altri che mi sembrano più conclusivi. Il Signor Pasteur avendo filtrato il sangue carbonchioso sul gesso, ha visto che il liquido filtrato non causa più il carbonchio mentre la parte del sangue rimasta sul filtro è estremamente contagiosa. Questo metodo che, ho più volte usato, non lascia assolutamente passare che la parte liquida del sangue; non si trova nella sostanza filtrata alcuna granulazione organica, per quanto piccola essa sia. Ora, il Signor Chauveau ha dimostrato che le proprietà contagiose degli umori virulenti appartengono esclusivamente alle loro particelle; se è così anche per il carbonchio, il risultato della filtrazione attraverso il gesso non ha niente di inatteso; ma non chiarisce la questione di sapere in quali elementi risiede la proprietà contagiosa. Bisognava dunque trovare un metodo di separazione che lasciasse passare le granulazioni arrestando i batteri. Una prima filtrazione su quattro fogli di carta sottile esattamente applicati l'uno sull'altro lasciava vedere

— 38 —

encore dans le liquide quelques rares bactériidies, et l'inoculation de ce produit transmettait le charbon. Je doublai le nombre des feuilles, qui furent d'abord mouillées, puis pressées l'une contre l'autre. Le sérum passa avec lenteur ; il contenait des granulations du sang et même quelques globules blancs, mais malgré les recherches les plus minutieuses je ne pus y reconnaître aucune bactériodie. Le liquide, ainsi débarrassé de ses éléments étrangers, fut injecté sous la peau de plusieurs lapins et ne produisit aucun effet ; il était complètement privé de ses propriétés contagieuses, et cependant il contenait encore des granulations et des globules blancs.

Dans le cas d'injection ou, si l'on veut, de transfusion directe de vaisseau à vaisseau, faite d'un animal à un autre de même espèce, on peut à volonté diminuer le temps qui sépare le moment de l'injection de celui de la mort, et supprimer la prétendue période d'incubation, comme le prouvent les expériences suivantes :

J'injecte, dans la jugulaire, à trois lapins placés dans les mêmes conditions, des quantités égales de liquide, 1 centimètre cube $\frac{1}{2}$ de sang pur, extrait immédiatement de la jugulaire avec la seringue Pravaz, d'un animal arrivé à la dernière période de la maladie charbonneuse ; sang dilué dans de l'eau distillée, et en telle quantité que ces différents liquides correspondent à 1,500 millions de bactériidies, 75 millions de bactériidies et 1,500 bactériidies. Le premier sujet meurt en sept heures, le second en douze à treize heures, le troisième en trente-six heures. Or, chacun sait que, lorsqu'il s'agit de virus, la quantité importe peu : si la durée de la période incubatrice varie, c'est pour des causes autres que la proportion de virus introduit.

ancora nel liquido qualche sporadico batterio e l'inoculazione di questo prodotto trasmetteva il carbonchio. Raddoppiai il numero dei fogli, che furono prima umidificati, poi pressati gli uni agli altri. Il siero passava con lentezza; conteneva granulazioni di sangue e anche qualche globulo bianco, ma malgrado le ricerche più minuziose non potei riconoscervi alcuna *bactéridies*. Il liquido, così sgombrato di elementi estranei, fu iniettato sotto la pelle di numerosi conigli e non produsse alcun effetto; era completamente privo delle sue proprietà contagiose e tuttavia conteneva ancora granulazioni e globuli bianchi. Nel caso di un'iniezione o, se si vuole, di trasfusione diretta di vaso in vaso, fatta da un'animale ad un altro della stessa specie, si può diminuire, a piacere, il tempo che separa il momento dell'iniezione da quello della morte, e sopprimere il supposto periodo di incubazione come lo provano i seguenti esperimenti:

Inietto, nella giugulare, a tre conigli posti nelle stesse condizioni, quantità uguali di liquido, 1 cm³ e mezzo di sangue puro, estratto subito dalla giugulare con la siringa Pravaz, da un animale arrivato all'ultimo periodo di malattia carbonchiosa; sangue diluito nell'acqua distillata, e in tale quantità che questi differenti liquidi corrispondono a 1,500 milioni di *bactéridies*, 75 milioni di *bactéridies* e 1,500 *bactéridies*. Il primo soggetto muore in sette ore, il secondo in 12 - 13 ore, il terzo in 36 ore. Ora, ciascuno sa che, quando si tratta di virus, la quantità importa poco: se la durata del periodo di incubazione varia, è per altre cause rispetto alla proporzione del virus introdotto.

-- 39 --

Dans les deux expériences suivantes, les faits sont encore plus probants. Un lapin inoculé depuis vingt-huit heures avec des bactériidies cultivées dans du sérum est sur le point de mourir : les bactériidies, examinées dans la jugulaire, sont au moins dans la proportion d'une pour deux globules sanguins, soit environ deux millions cinq cent mille par millimètre cube.

A. Lapin de trois mois, pesant 515 grammes; température 41°5.

A 4 h. 25 m., injection, dans la jugulaire, de 2 centimètres cubes du sang, soit 5 milliards de bactériidies.

A 4 h. 55 m., examen du sang d'une veine de l'oreille : 5 à 6 bactériidies par champ du microscope (objectif 7 de Véricik).

A 5 h. 30., 8 à 10 bactériidies par champ.

A 6 h. 10 m., 12 à 14 bactériidies, température 39°6.

A 7 h. 40 m., 150 bactériidies, température 37°3, coma très profond, globules agglutinés. L'examen du sang de la jugulaire montre 700 à 800 bactériidies par champ. (Elles sont toujours beaucoup moins nombreuses dans les vaisseaux de l'oreille, où la circulation se ralentit très vite.) L'animal est de plus en plus malade; après quelques convulsions générales, il meurt à 7 h. 50 m., c'est-à-dire trois heures vingt-cinq minutes après l'injection.

B. Lapin de la même portée, plus fort, du poids de 820 grammes, température 41°3.

A 4 h. 45 m., injection de 1 centimètre cube de sang pris directement dans le ventricule droit, au moyen d'une seringue Pravaz, soit 2 milliards 500 millions de bactériidies.

A 5 h., examen du sang de l'oreille; 1 ou 2 bactériidies par champ.

A 5 h. 35 m. et 6 h. 20 m., la proportion de bactériidies reste la même dans la veine de l'oreille.

A 8 h., je coupe en travers une petite artère de l'oreille : 13 à 14 bactériidies par champ; le coma commence; température 39°3.

A 8 h. 30 m., 20 bactériidies par champ, coma profond, globules agglutinés.

A 9 h., 50 bactériidies, température 36°5. Le thermomètre baisse

Nelle successive due sperimentazioni, i fatti sono ancora più probanti. Un coniglio inoculato da 28 ore con *bactéridies* coltivate nel siero è sul punto di morire: le *bactéridies*, esaminate nella giugulare, sono in una proporzione di uno per due globuli sanguigni, cioè circa due milioni cinquecentomila per millimetro cubo.

A. Coniglio di tre mesi, peso 515 grammi; temperatura 41,5°.

A. 4 h. 25 m., iniezione, nella giugulare, di 2 cm³ di sangue, cioè 5 miliardi di *bactéridies*.

A. 4 h. 55 m., esame del sangue di una vena dell'orecchio: 5 - 6 batteri per campo visivo di microscopio (obiettivo 7 di Verick).

A. 5 h. 30,8 a 10 *bactéridies* per campo.

A. 6 h. 10 m., da 12 a 14 *bactéridies* temp. 39,6°.

A. 7 h. 40 m., 150 *bactéridies*, temp. 37,3°, coma molto profondo, globuli ammassati. L'esame del sangue della giugulare mostra 700 - 800 *bactéridies* per campo. (esse sono sempre molto meno numerose nei vasi sanguigni dell'orecchio, dove la circolazione rallenta molto velocemente). L'animale è sempre più malato; dopo alcune convulsioni generali, muore a 7 h. 50 m., vale a dire 3 ore e 25 m. dopo l'iniezione.

B. Coniglio della stessa portata, più forte, di peso 820 grammi e temperatura 41,3°.

A. 4 h. 45 m. iniezione di 1 cm³ di sangue preso direttamente nel ventricolo destro per mezzo di una siringa Pravaz, cioè 2 miliardi 500 milioni di *bactéridies*.

B. 5 h. esame del sangue dell'orecchio; 1 o 2 *bactéridies* per campo.

A. 5 h. 35 m. e 6 h. 20 m. la proporzione delle *bactéridies* resta la stessa nella vena dell'orecchio.

A. 8 h., taglio di traverso una piccola arteria dell'orecchio: 13 - 14 *bactéridies* per campo; comincia il coma; temp. 39,3°.

A. 8 h. 30 m., 20 *bactéridies* per campo, come profondo, globuli ammassati.

A. 9 h., 50 batteri, temp. 36,5°. Il termometro si abbassa sotto gli occhi. Coma talmente profondo che la puntura alla cornea provoca a malapena un batter di ciglia. Si può contare almeno 1,000 *bactéridies* per campo nella giugulare.

— 40

sous les yeux. Coma tellement profond que la piqure de la cornée provoque à peine un clignotement. On peut compter au moins 1,000 bactériidies par champ, dans la jugulaire.

A 9 h. 15 m., mort de l'animal; température 36°8. La mort est arrivée en quatre heures vingt-cinq minutes.

Dans ces deux cas, l'autopsie démontre l'existence d'embolies dans tout le système capillaire. Elles sont tellement nombreuses dans le poumon, qu'elles en cachent complètement la structure.

Les cinq expériences que je viens de rapporter démontrent bien que la mort est due à la multiplication des bactériidies. On peut, en tenant compte de la quantité de bactériidies injectées, de la durée de la maladie, de la masse du sang des sujets et du nombre approximatif de bactériidies existant au moment de la mort, établir que la multiplication des parasites se fait suivant une progression géométrique, qui commence immédiatement après leur introduction dans le système sanguin. L'intervalle de temps qui sépare chaque terme de la progression est ici d'environ quarante minutes. Il est irréfutable également que cette multiplication se fait dans les vaisseaux sanguins, et qu'il ne peut être question d'une incubation, quelque courte qu'elle soit. La présence du parasite, que l'on suit pas à pas, exclut toute autre cause.

A. 9 h. 15 m., morte dell'animale, temp. 36.8°. La morte è arrivata in 4 h. e 25 minuti. In questi due casi, l'autopsia dimostra l'esistenza di embolia in tutto il sistema capillare. Sono talmente numerose nel polmone da nascondere completamente la struttura.

I cinque esperimenti che ho messo a confronto dimostrano che la morte è dovuta alla moltiplicazione delle *bactéridies*. Tendendo conto della quantità dei batteri iniettati, della durata della malattia, della mole di sangue dei soggetti e del numero approssimativo dei batteri esistenti al momento della morte, si può stabilire che la moltiplicazione dei parassiti si ha secondo una progressione geometrica che comincia immediatamente dopo la loro introduzione nel sistema sanguigno. L'intervallo di tempo che separa ciascun termine della progressione è di circa 40 minuti. È irrefutabile ugualmente che questa moltiplicazione si compie nei vasi sanguigni e che non può essere questione di incubazione, pur breve che sia. La presenza del parassita che si analizza puntualmente, esclude ogni altra causa.

III

CULTURE DES BACTÉRIDIES

Les premières tentatives de culture des bactéridies du charbon ont été faites par Delafond en 1860. Dans une première série d'expériences, cet auteur différencie nettement les vibrions des infusions végétales et ceux de la putréfaction des baguettes charbonneuses. Il montre : 1° Qu'en injectant dans le tissu conjonctif ou les vaisseaux du lapin des liquides chargés de vibrions des infusions, on ne provoque aucun phénomène morbide ; 2° qu'au contraire, si on fait l'injection avec des liquides chargés de vibrions de la putréfaction, les animaux succombent plus ou moins rapidement sans que l'examen du sang laisse voir aucun vibrion.

Ces faits, comparés aux expériences faites avec les baguettes charbonneuses, qui se retrouvent toujours en quantité immense au moment de la mort, paraissent suffisants à Delafond pour établir une distinction nette entre ces baguettes et les infusoires qui leur ressemblent. Il pense que les baguettes sont des végétaux cryptogames et cherche alors à les cultiver ; pour ces essais forcément

III**COLTURA DELLE BACTÉRIDIES**

I primi tentativi di coltura dei batteri del carbonchio sono state fatte da Delafont nel 1860. In una prima serie di esperimenti, questo autore differenzia nettamente i vibroni degli infusi vegetali e quelli della putrefazione delle bacchette carbonchiose.

Egli dimostra:

1. Che iniettando nel tessuto connettivo o nei vasi del coniglio, liquidi carichi di vibroni provenienti da infusioni, non si provoca alcun fenomeno morboso;
2. Che al contrario, se si fa l'iniezione con liquidi carichi di vibroni della putrefazione, gli animali muoiono più o meno rapidamente senza che l'esame del sangue lasci intravedere alcun vibrione.

Questi fatti, comparati agli esperimenti fatti con le bacchette carbonchiose, che si ritrovano sempre in gran quantità al momento della morte, sembrano sufficienti a Delafont per stabilire una distinzione netta tra queste bacchette e gli infusori che li rassomigliano. Egli ritiene che le bacchette sono dei vegetali crittogami e cerca allora di coltivarli; per queste prove necessariamente

— 42 —

incomplets, il institue deux séries d'expériences : 1° Les expériences tendant à empêcher la végétation des cryptogames ; 2° des expériences favorables à cette végétation. Dans ces dernières, Delafond a vu, au bout de quelques jours, la longueur des baguettes quadruplée, et il conclut à une véritable végétation.

Il ajoute ces lignes : « Ces dernières expériences m'ayant démontré d'une manière déjà bien satisfaisante que les filaments charbonneux étaient une matière organique végétale, j'ai dû pousser plus loin les expériences que j'avais entreprises et chercher à obtenir un développement complet de cette production, c'est-à-dire à lui faire donner des spores ou graines ; mais malgré les expériences variées et nombreuses auxquelles je me suis livré, je n'ai pu encore atteindre ce résultat important. J'espère pourtant qu'en multipliant et variant mes expérimentations, je pourrai atteindre un développement entier du cryptogame. Quoi qu'il en soit, il me paraît, je ne puis encore dire certain, mais pourtant extrêmement probable que, dans le sang vivant des animaux atteints de la fièvre charbonneuse, circulent, quelque temps avant la mort, et se multiplient prodigieusement, des filaments de nature végétale pouvant s'accroître lorsque le sang retiré des vaisseaux est mis dans des conditions favorables à la végétation, et donner lieu à un mycélium très remarquable formé de nombreux filaments déliés. »

J'ai tenu à citer en entier ce passage, car il semble qu'il soit écrit d'hier, depuis que la culture des êtres inférieurs est mise à l'ordre du jour ; mais au moment où Delafond écrivait ces lignes, un très petit nombre de savants s'oc-

incomplete, istituisce due serie di esperimenti: 1) Gli esperimenti tendenti a impedire la vegetazione delle crittogame, 2) esperimenti favorevoli a questa vegetazione. In quest'ultimi, Delafont ha visto la lunghezza delle bacchette quadruplicarsi e giunge ad una reale vegetazione. E aggiunge queste righe: «Questi esperimenti, avendomi dimostrato in maniera già ben soddisfacente, che i filamenti carbonchiosi erano una materia organica vegetale, ho dovuto spingere più lontano gli esperimenti che avevo intrapreso e cercare di ottenere uno sviluppo completo di questa produzione, vale a dire di farli produrre spore o semi; ma malgrado gli esperimenti vari e numerosi ai quali mi sono dedicato, io non ho ancora potuto raggiungere questo risultato importante. Spero pertanto moltiplicando e diversificando i miei esperimenti di poter raggiungere uno sviluppo completo delle crittogame. Comunque sia, mi sembra, non posso ancora esserne certo, ma è molto probabile che, nel sangue vivo degli animali colpiti dalla febbre del carbonchio, circolino, qualche tempo prima della morte, e si moltiplichino in modo prodigioso, dei filamenti di natura vegetale che possono aumentare quando il sangue ritratto dai vasi è messo nelle condizioni favorevoli alla vegetazione e, possono dare luogo ad un micelio molto notevole formato da numerosi filamenti slegati».

Ci tenevo a citare per intero questo passaggio, perché sembra che sia stato scritto ieri, da quando la coltura degli esseri inferiori è messa all'ordine del giorno; ma nel momento in cui Delafont scriveva queste righe, un piccolissimo numero di scienziati

— 43 —

cupaient de cette question, les méthodes n'existaient pas encore, on n'était point pourvu de ces appareils si délicats imaginés par M. Pasteur, et qui eussent permis au professeur d'Alfort de réaliser son désir.

Depuis l'époque où Delafond cherchait à cultiver le leptothrix du charbon, les recherches de M. Pasteur sur les ferments ont provoqué de toutes parts un mouvement considérable dans cette direction, et enfin, il y a trois ans, un savant allemand, le D^r Koch, étudiait de nouveau la culture des bactériidies et arrivait à des conclusions d'une haute importance. M. Pasteur, reprenant la question, démontre, par ses cultures, que la bactériдие ou ses spores sont les seules causes que l'on puisse invoquer pour le développement de la maladie charbonneuse. Je vais résumer rapidement les recherches des auteurs que je viens de nommer, après quoi j'exposerai celles qui me sont propres.

Le D^r Koch¹ a cultivé les bactériidies du charbon en employant le procédé de Cohn : il dilue une très faible quantité de sang charbonneux dans une goutte de sérum ou d'humeur aqueuse; le tout est mis sur une lame de verre, maintenue à une certaine température et dans des conditions permettant une observation facile et de longue durée. Il voit alors les bactériidies s'allonger et acquérir jusqu'à dix, vingt et cent fois leur longueur primitive pour former des paquets de filaments entrelacés. Après dix ou quinze heures apparaissent dans leur intérieur de

¹ D^r Koch. Die Ätiologie der Milzbrand Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* herausgegeben von Dr Ferdinand Kohn, 1876, p. 277.

si occupavano di questo problema, i metodi non esistevano ancora, non si era affatto provvisti di quegli apparecchi così scrupolosi immaginati dal Signor Pasteur e che avrebbero permesso al professore d'Alfort di realizzare il suo desiderio.

Dal periodo in cui Delafont cercava di coltivare il *leptothrix* del carbonchio, le ricerche del Signor Pasteur sui fermenti hanno provocato da tutte le parti un considerevole movimento in questa direzione ed infine, tre anni fa, uno scienziato tedesco, il dottor Koch, studiava nuovamente la coltura delle *bactéridies* arrivando a conclusioni di estrema importanza. Il Signor Pasteur, riprendendo la questione, dimostra, attraverso le sue colture, che la *bactéridie* o le sue spore sono le sole cause che si possono citare per lo sviluppo della malattia del carbonchio. Riassumo rapidamente le ricerche degli autori che appena citati, dopodiché esporrò quelle che mi sono proprie.

Il dottor Koch¹ ha coltivato i batteri del carbonchio usando il procedimento di Cohn: diluisce una debole quantità di sangue carbonchiosa in una goccia di siero o umore vitreo; il tutto viene messo su una lamina di vetro, mantenuta ad una certa temperatura e in condizioni che permettono una osservazione facile e di lunga durata. Egli vede dunque le *bactéridies* allungarsi e aumentare sino a 10, 20 e 100 volte la propria originaria lunghezza per formare degli ammassi di filamenti intrecciati. Dopo dieci o quindici ore, appaiono al loro interno delle sottili granulazioni rifrangenti, molto ravvicinate ma regolarmente distanziate.

¹ Dr Koch. Die Aetiologie der Milzbrand Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis *Beitrag zur Biologie der Pflanzen* herausgegeben von Ferdinand Kohn, 1876, p. 277.

— 44 —

fines granulations réfringentes, très-rapprochées, mais régulièrement espacées. Puis les longs filaments se dissocient et, à leur place, on ne voit plus que les granulations alignées et maintenues par une substance unissante formée des derniers vestiges des filaments. Les granulations s'isolent ensuite et constituent de véritables spores identiques à celles des autres bactéries observées par Cohn. Koch a déterminé de plus les conditions dans lesquelles les spores se développent. Une température de 35° provoque le développement rapide des bacilles; après vingt heures, elles présentent déjà des spores. A 30° le développement des spores est plus tardif; on ne les aperçoit qu'après trente heures. De 18 à 20°, il leur faut de deux à trois jours pour se former. Au-dessous de 18° et jusqu'à 12° les bacilles ne se développent plus. Au-dessus de 40° le développement des bacilles est difficile, et à 45°, il ne paraît pas se faire.

Koch a constaté également que la présence de l'air est indispensable au développement des bactéries : dans un milieu pauvre en oxygène, leur contenu devient trouble, se segmente en petits fragments qui se divisent et disparaissent.

Les spores du *Bacillus anthracis* germent et reproduisent des spores.

Dans la première communication de M. Pasteur sur le charbon, à l'Académie des sciences, cet éminent expérimentateur a rendu compte (séance du 30 avril 1877) de recherches faites en commun avec M. Joubert sur la culture du parasite du charbon. MM. Pasteur et Joubert se sont servis surtout, comme milieu de culture, de l'urine neutre ou légèrement alcaline, ou encore de la

Poi i lunghi filamenti si dissociano e al loro posto, non si vedono che le granulazioni allineate e mantenute da una sostanza unificante formata dalle ultime vestigia dei filamenti. Le granulazioni si isolano in seguito e costituiscono delle autentiche spore identiche a quelle degli altri batteri osservati da Cohn. Koch ha determinato inoltre le condizioni in cui le spore si sviluppano. Una temperatura di 35° provoca lo sviluppo rapido dei bacilli; dopo 20 ore, essi presentano già delle spore. A 30° lo sviluppo delle spore è più tardivo; non le si individua che dopo trenta ore. Da 18 a 20° occorre loro da due a tre giorni per formarsi. Al di sotto di 18 e fino ai 12° i bacilli non si sviluppano più. Al di sotto dei 40° lo sviluppo dei bacilli è difficile e a 45°, non sembra possibile.

Koch ha constatato ugualmente che la presenza dell'aria è indispensabile per lo sviluppo delle *bactéridies*: in ambiente povero di ossigeno, il loro contenuto diviene (...), si segmenta in piccoli frammenti che si dividono e spariscono.

Le spore del *Bacillus anthracis* germinano e riproducono le spore.

Nella prima Comunicazione del Signor Pasteur sul carbonchio, all'Accademia delle scienze, questo illustre sperimentatore (seduta del 30 aprile 1877) ha reso conto delle ricerche fatte in comune con il Signor Joubert sulla coltura del parassita del carbonchio.

I Signori Pasteur e Joubert si sono serviti soprattutto, come luogo di coltura, di urina neutra o leggermente alcalina, o ancora

— 45 —

solution minérale artificielle employée depuis longtemps par M. Pasteur pour la culture des ferments. Ils sont ainsi parvenus à faire naître, dans leurs appareils, des quantités énormes de bactériidies se reproduisant indéfiniment dans de nouvelles solutions, et conservant aussi toutes leurs propriétés toxiques sur les animaux aptes à contracter le charbon.

Après douze cultures successives, et en faisant passer seulement une goutte du ballon rempli de spores dans le ballon nouveau, MM. Pasteur et Joubert démontrent que la culture du dernier ballon est aussi toxique que celle du premier, et qu'il faut seulement une très petite quantité de liquide pour tuer un animal. Cette expérience suffit à elle seule pour donner la preuve que la bactériдие est la cause unique du charbon.

J'ai répété moi-même très souvent, dans l'année qui vient de s'écouler, les expériences de MM. Koch, Pasteur et Joubert, et je dois dire que j'ai pu constater la parfaite exactitude de leurs récits.

J'emploie pour les cultures à suivre au microscope la chambre humide et chaude, décrite par Ranvier¹, qui permet de suivre avec la plus grande facilité tous les stades de développement des parasites. Après avoir exactement nettoyé avec des acides forts la chambre et surtout la rainure qui entoure la borne médiane, je la passe sur la flamme d'une lampe à alcool ainsi que la lamelle de recouvrement, puis je pique avec une pipette en verre étirée au moment même la cornée d'un animal qui vient d'être tué, et j'aspire une goutte d'humeur aqueuse qui est

¹ Ranvier, *Traité technique d'histologie*, p. 44 et 41.

una soluzione minerale artificiale usata da molto tempo dal Signor Pasteur per la coltura dei fermenti. Sono pervenuti a far nascere, nei loro apparati, quantità enormi di *bactéridies* che si riproducono indefinitamente in nuove soluzioni, conservando tutte le loro proprietà tossiche sugli animali atti a contrarre il carbonchio. Dopo 12 successive colture, facendo passare solamente una goccia della boccetta riempita di spore nella nuova boccetta, i Signori Pasteur e Joubert dimostrano che la coltura dell'ultima boccetta è tossica come quella della prima e che serve solamente una piccolissima quantità di liquido per uccidere un animale. Questo esperimento basta da solo a dar prova che la *bactéridie* è la causa unica del carbonchio.

Io stesso, ho ripetuto molto spesso, nell'anno che sta per finire, gli esperimenti dei Signori Koch, Pasteur e Joubert e devo dire che ho potuto constatare la perfetta esattezza dei loro racconti.

Ho impiegato per le colture, successivamente il microscopio, la camera umida e calda, descritta da Ranvier², che permette di seguire con grande facilità tutti gli stadi di sviluppo dei parassiti. Dopo aver pulito scrupolosamente con forti acidi la camera e in modo particolare l'incavo che circonda il limite mediano, la passo sulla fiamma di una lampada ad alcool così come il vetrino di rivestimento, poi pungo con una pipetta in vetro trafilato, in quello stesso momento, la cornea di un animale appena ucciso e aspiro una goccia di umor vitreo che in seguito viene depositato nell'estremità; una piccolissima quantità di sangue

² Ranvier, Trattato tecnico di istologia, pp. 41 e 44.

ensuite déposée sur la borne ; une très petite quantité de sang recueilli de la même manière dans un vaisseau d'un lapin mourant ou qui vient de périr du charbon, est ajoutée à l'humeur aqueuse ; je me sers aussi, et même de préférence au sang, de la sérosité de l'œdème charbonneux qui entoure le ganglion le plus rapproché du point inoculé ; cette sérosité ne renferme qu'un très-petit nombre de bactériidies, la préparation n'est pas obscurcie par les globules sanguins et l'examen est aussi rendu beaucoup plus net et plus facile.

Lorsque ces précautions ont été prises, il arrive souvent que plusieurs jours après, on ne rencontre dans la préparation aucun être organisé autre que la bactériodie, mais si quelques bactéries se développent, elles ne gênent pas l'observation et n'empêchent nullement la série des transformations qu'on va voir s'effectuer.

Lorsque les bactéries sont peu nombreuses, il arrive qu'on en rencontre une ou deux seulement dans le champ du microscope ; c'est la condition qui convient le mieux pour l'observation (pl. I, fig. 1 à 6) ; on doit encore, si l'on veut observer toutes les transformations, choisir un point aussi rapproché que possible de la rainure à air, car c'est en cet endroit que la diffusion de l'oxygène se fera avec la plus grande facilité, et que le développement sera le plus rapide et le plus complet. J'ai pu, en observant ces prescriptions, dessiner d'heure en heure des bactériidies isolées et assister à toutes leurs transformations. En moins d'une heure elles ont doublé de longueur : après deux heures elles ont décuplé, et au bout de sept à huit heures elles couvrent complètement le champ du microscope et s'étendent même bien au delà. Quelque-

raccolto nella stessa maniera nel vaso sanguigno di un coniglio prossimo alla morte o morto di carbonchio, viene aggiunto all'umor vitreo; mi servo anche, e preferibilmente al sangue, del siero dell'edema carbonchioso che circonda la ghiandola più vicina al punto inoculato; questo siero non contiene che un piccolo numero di batteri, il preparato non viene oscurato dai globuli del sangue e l'esame è reso pertanto molto più chiaro e facile.

Quando queste precauzioni sono state prese, accade spesso che dopo numerosi giorni, non si trovi nel preparato alcun essere organizzato oltre alle *bactéridies*, e se alcuni batteri si sviluppano, essi non offuscano l'osservazione e non impediscono assolutamente la serie di trasformazioni che si sta per compiere. Quando i batteri sono poco numerosi, accade che se ne incontrino uno o due soltanto per campo nel microscopio; è la condizione migliore per l'osservazione; si deve inoltre, se si vogliono osservare tutte le trasformazioni, si scegliere il punto più vicino possibile all'estremità esposta all'aria, perché è in questo posto che la diffusione dell'ossigeno avverrà con estrema facilità e che lo sviluppo sarà più rapido e più completo. Ho potuto, osservando queste prescrizioni, far risaltare di ora in ora delle *bactéridies* isolate ed assistere a tutte le loro trasformazioni. In meno di un'ora esse hanno duplicato la loro lunghezza: dopo due ore si sono decuplicate e dopo 7 - 8 ore coprono completamente il campo del microscopio e si estendono anche oltre. Talvolta

— 47 —

fois les bactériidies forment de longs filaments à peu près rectilignes, mais le plus souvent elles s'amassent en véritables paquets dont la forme est presque toujours la même; elles s'accolent volontiers aux bactériidies qu'elles rencontrent en progressant, et cheminent alors parallèlement ou plutôt en s'enroulant les unes autour des autres; lorsque les deux extrémités d'une longue bactériidie sont fixées, elle forme en s'allongeant une anse qui tourne sur elle-même; cette disposition est quelquefois tellement marquée que les paquets prennent la disposition des torsions d'une corde usée. A une température de 35 à 40°, et après seize à dix-huit heures de culture, on remarque très nettement qu'elles ont augmenté de diamètre et renferment un protoplasma très légèrement granuleux qui peut manquer en certains endroits par lesquels la bactériidie se dessine seulement par ses contours. Presque toujours, au début de son accroissement, la bactériidie, même la plus longue, ne présente aucune trace de segmentation; mais dans les dernières heures, lorsque l'allongement est moins rapide, on observe des traits transversaux indiquant une division en articles. Le protoplasma se rétracte et bientôt on voit apparaître à chaque extrémité des segments une masse réfringente, ovoïde, constituant la spore. Dans cet état, la bactériidie offre, comme le dit fort bien Koch, l'aspect d'un chapelet de perles (voy. pl. I, f. 12.); ces perles sont le plus souvent rapprochées deux par deux et, si la bactériidie est segmentée, elles sont séparées par un trait transversal indiquant qu'elles appartiennent à deux segments différents, aux extrémités desquels elles se sont formées. Dans les heures suivantes, les contours de la bactériidie ou les lignes

le *bactéridies* formano dei lunghi filamenti pressappoco rettilinei, ma più spesso quelli si raccolgono in veri ammassi la cui forma è quasi sempre la stessa; esse si uniscono volentieri ai batteri che incontrano avanzando e camminano parallelamente o piuttosto attorcigliandosi le une con le altre; quando le due estremità di una *bactéridie* sono fisse, essa forma allungandosi ad ansa che gira su se stessa; questa disposizione è talvolta così marcata che gli ammassi di batteri assumono la disposizione dei legnoli di una corda usata. A una temperatura da 35 a 40° e dopo

16 -18 ore di coltura, si nota molto chiaramente che la *bactéridie* ha aumentato di diametro e contiene un protoplasma molto granuloso, che può mancare in certi punti per cui la *bactéridie* si disegna solamente per i suoi contorni. Quasi sempre, al principio del suo accrescimento la *bactéridie*, anche la più lunga, non presenta alcuna traccia di segmentazione; ma nelle ultime ore, quando l'allungamento è meno rapido, si osservano dei tratti trasversali che indicano una divisione in parti. Il protoplasma si ritrae e presto si vede apparire a ciascuna estremità dei segmenti una massa rifrangente, ovale, che costituisce la spora. A questo stadio la *bactéridie* assume, come dice a voce alta Koch, l'aspetto di un rosario di perle; queste perle sono il più delle volte ravvicinate a due a due e se la *bactéridie* è segmentata, esse sono separate per un tratto trasversale indicante che la loro appartenenza a due segmenti diversi, alle estremità delle quali esse si sono formate. Nelle ore seguenti, i contorni della *bactéridies* o le linee

— 48 —

qui bordent les spores pâlisent de plus en plus et bientôt disparaissent ; il ne reste plus qu'une substance granuleuse entourant les spores. Celles-ci sont ainsi devenues libres ; elles ne conservent pas longtemps leurs rapports : animées de mouvements browniens très accentués, elles tournent sur elles-mêmes avec rapidité, en se rapprochant les unes des autres pour former bientôt des amas brillants au milieu de la poussière grisâtre résultant de la désagrégation des filaments (pl. I, fig. 5.).

En employant le même procédé, j'ai pu suivre très exactement la transformation des spores en bactériodies (pl. I, fig. 7 à 14) ; mais sur ce point, mes résultats diffèrent de ceux annoncés par Koch. D'après cet auteur, on verrait la spore s'entourer d'une masse gélatineuse, transparente, de forme ronde ; cette masse s'allongerait petit à petit dans un seul sens et deviendrait ovoïde ; la spore occuperait l'un des pôles de cet ovoïde. Cette enveloppe transparente s'accroît encore en longueur et devient filiforme ; la spore diminue de volume, pâlit, se fragmente et disparaît. Le bacille est alors constitué.

J'ai observé quelquefois cette matière gélatineuse dont parle Koch ; elle existe presque toujours autour des bactériodies cultivées dans les ballons et les enveloppes ainsi que les spores ; mais ce n'est, croyons-nous, qu'une sécrétion des microphytes et non une substance destinée à leur nutrition. Lorsqu'elle existe en grande quantité, elle rappelle assez bien la gaine graisseuse des tubes nerveux frais ; comme cette dernière, elle forme autour de la bactériodie une enveloppe continue, étranglée de distance en distance et, lorsqu'elle est isolée, des gouttelettes analogues à celles de la myéline ; on ne trouve nettement la

che circondano le spore sbiadiscono poco a poco e presto spariscono; non resta altro che una sostanza granulosa che circonda le spore. Queste ultime sono inoltre divenute libere; non conservano più i loro rapporti: animate da movimenti browniani molto accentuati, le spore ruotano su se stesse con rapidità avvicinandosi le une alle altre per formare ammassi brillanti in mezzo alla polvere grigiastra che risulta dalla disgregazione dei filamenti.

Usando lo stesso procedimento, ho potuto seguire molto chiaramente la trasformazione delle spore in *bactéridies*; ma su questo punto i miei risultati differiscono da quelli annunciati da Koch. Secondo questo autore, si vedrebbe la spora circondata da una massa gelatinosa, trasparente, di forma rotonda; questo ammasso si allungerebbe poco a poco in un solo senso e diverrebbe ovale; la spora occuperebbe uno dei poli dell'ovoidale. Questo involucro trasparente si accrescerebbe ancora in lunghezza e diverrebbe filiforme; la spora diminuirebbe di volume, sbiadirebbe, si frammenterebbe e sparirebbe. Il bacillo sarebbe dunque costituito.

Io ho osservato qualche volta questa materia gelatinosa di cui parla Koch; questa si trova quasi sempre attorno alle *bactéridies* coltivate nelle boccette, e le avvolge come le spore; ma ciò non è, crediamo noi, che una secrezione dei microfiti e non una sostanza destinata alla loro nutrizione. Quando essa si trova in grande quantità, richiama abbastanza bene la guaina adiposa dei tubi nervosi; come quest'ultima, essa forma attorno alla *bactéridie* un involucro continuo, strozzato di distanza in distanza e quando è isolata, delle goccioline analoghe a quelle della mielina; non si trova chiaramente

— 49 —

substance dont nous parlons que dans les liquides renfermant de grandes quantités de bactériidies et surtout lorsqu'il y a un commencement de putréfaction ; je ne l'ai rencontrée que très rarement dans les cultures dépourvues d'autres vibrions. Si on transporte des spores desséchées dans un liquide frais, on ne la voit jamais ; voici dans ce cas ce que l'on observe : les spores sont très réfringentes et animées de mouvements browniens comme si elles venaient d'être produites. Au bout d'une demi-heure à une heure, à une température de 37 à 38°, dans l'urine, le sérum ou l'humeur aqueuse, les spores perdent leur réfringence, et leurs mouvements browniens cessent presque complètement : elles deviennent pâles comme les bactériidies et très finement granuleuses, puis s'allongent dans le sens de leur plus grand diamètre ; après deux heures de culture, le corpuscule a deux ou trois fois ses dimensions primitives : c'est alors une bactériдие dont l'allongement fait des progrès rapides. Les bactériidies provenant de spores possèdent, lorsqu'elles commencent à s'accroître, de légers mouvements par lesquels elles peuvent changer leurs rapports, mais de très peu ; néanmoins ce déplacement est fort net ; lorsqu'on examine un groupe de trois ou quatre spores rassemblées à petite distance comme celles représentées dans la planche I, figures 7, 8. et 9, on les voit s'écarter ou se rapprocher les unes des autres par des mouvements lents d'oscillation et dans des liquides tout à fait immobiles. Ces déplacements ne sont jamais bien considérables, je les ai souvent observés, mais jamais ils n'ont été suffisants pour que la bactériдие s'échappe du champ d'observation. Les mouvements cessent complètement aussitôt que la bactériдие a acquis

la sostanza di cui parliamo se non nei liquidi contenenti grandi quantità di *bactéridies* e soprattutto quando vi è un inizio di putrefazione; io non l'ho incontrato che molto raramente nelle colture prive di altri vibrioni. Se si trasportano le spore essiccate in un liquido fresco, non le si vedono mai; ecco in questo caso ciò che si osserva: le spore sono molto rifrangenti e animate da movimenti browniani come se fossero state appena prodotte. In un lasso di tempo che va da una mezz'ora ad un ora, a una temperatura di 37 - 38°, nell'urina, nel siero o nell'umore vitreo, le spore perdono la loro rifrangenza e i loro movimenti browniani cessano quasi completamente: esse diventano pallide come le *bactéridies* e molto granulose, poi si allungano nel senso del loro più ampio diametro; dopo due ore di coltura, il corpuscolo ha due o tre volte le sue dimensioni originarie: è allora una *bactéridie* in cui l'allungamento fa dei rapidi progressi. Le *bactéridies* provenienti dalle spore possiedono, quando quelle cominciano ad accrescersi, dei leggeri movimenti per mezzo dei quali possono cambiare i rapporti tra loro, ma di pochissimo; nondimeno questo spostamento è netto; quando si esamina un gruppo di 3 o 4 spore adunate a breve distanza come quelle rappresentate nella tavola I, figure 7, 8 e 9, le si vede allontanarsi o avvicinarsi le une alle altre con dei movimenti lenti di oscillazione, nei liquidi completamente immobili. Questi spostamenti non sono mai considerevoli, li ho osservati spesso, ma non sono mai stati sufficienti affinché la *bactéridie* sfugga dal campo d'osservazione. I movimenti cessano completamente non appena la *bactéridie*

— 50 —

assez de longueur pour se segmenter¹. A partir de ce moment les phénomènes de développement des bactériidies diffèrent suivant le point de la préparation où elles se trouvent. Celles qui sont placées près de la rainure à air augmentent rapidement de longueur, forment des amas articulés et, au bout de seize à dix-huit heures, on voit apparaître des spores dans leur intérieur, surtout si la préparation a été exposée à la lumière; souvent, dans ce cas, on n'aperçoit pas de cloisons transversales dans le filament. Si, au contraire, la bactériдие est restée dans l'obscurité, les spores mettent plus longtemps à se montrer (fig. 3), dix à quinze heures de plus, et presque toujours le cloisonnement précède leur formation. Les bactériidies qui occupent le milieu de la borne de la chambre humide et qui, en raison de leur situation, reçoivent très peu d'oxygène de la rainure, s'arrêtent bientôt dans leur développement, restent petites, formées de deux, quatre ou cinq articles se séparant facilement les uns des autres; elles

¹ J'ai observé, au mois de juillet 1878, une bactérie ayant les plus grands rapports de forme et de développement avec la bactériдие du charbon; elle en différait seulement en ce que les bâtonnets non articulés étaient doués de mouvements très rapides. Ces bactéries se trouvaient en grande quantité dans du sang provenant d'un porc mort du rouget, et après vingt heures d'extraction, mais elles y étaient arrivées accidentellement. Cultivées dans la chambre humide et chaude, elles se massèrent sur les bords de la rainure à air, perdirent leurs mouvements, s'allongèrent en formant des paquets de filaments absolument analogues à ceux des bactériidies, avec cette seule différence que les articles étaient plus courts; comme elles aussi, elles donnèrent naissance à des spores tout à fait identiques; mais ces bactéries, quoique vivantes et se reproduisant par segmentation et par spores dans les liquides organiques, étaient tout à fait inoffensives pour les animaux vivants. Le sang qui les contenait, et les spores obtenues par culture, inoculés à trois lapins, deux agneaux, une hrebis, deux porcelets, une ânesse et un cheval, n'a rien produit que de petites tumeurs aux points d'inoculation, tumeurs qui ont fourni de petits abcès sans aucune espèce de gravité.

ha acquisito una lunghezza tale da potersi segmentare.³ A partire da questo momento i fenomeni di sviluppo delle *bactéridies* cambiano spesso il punto della preparazione in cui si trovano. Quelle che si trovano vicino all'incavo dell'aria aumentano rapidamente di lunghezza, formando dei cumuli articolati e dopo 16 - 18 ore, si vedono apparire spore al loro interno soprattutto se il preparato è stato esposto alla luce; spesso in questo caso non si scorgono il setto trasversale nel filamento. Se al contrario la *bactéridie* è rimasta all'oscurità le spore ci mettono più tempo a manifestarsi, dieci, quindici ore di più e quasi sempre la divisione precede la loro formazione. I batteri che occupano il posto dell'estremità della camera umida e che, in ragione della loro situazione, ricevono pochissimo ossigeno dall'incavo, si arrestano subito nello sviluppo, restano piccoli, formati da 2 - 4 - 5 - 6 bastoncini, si separano facilmente gli uni dagli altri;

³ Ho potuto osservare, nel giugno 1878, un batterio avente i più grandi rapporti di forma e di sviluppo con le *bactéridies* del carbonchio; esso differiva solamente nel fatto che i bastoncini non articolati erano dotati di movimenti molto rapidi. Questi batteri si trovavano in grande quantità nel sangue proveniente da un maiale morto di mal rossino e dopo 20 ore dall'estrazione, ma vi erano arrivati accidentalmente. Coltivati nella camera umida e calda, si ammassavano sui bordi dell'incavo dell'aria, perdevano i loro movimenti, si allungavano formando dei mucchi di filamenti assolutamente analoghi a quelli delle *bactéridies*, con la sola differenza che i bastoncini erano più corti; come quelle, anche questi danno origine a spore completamente identiche; ma questi batteri, sebbene viventi e riproducendosi per segmentazione e attraverso spore nei liquidi organici, erano completamente inoffensivi per gli animali vivi. Il sangue che li conteneva e le spore ottenute per coltura, inoculati a tre conigli, due agnelli, una pecorella, due porcellini, un'asina ed un cavallo, non ha prodotto altro che dei piccoli tumori nei punti di inoculazione, tumori che hanno fornito dei piccoli ascessi senza alcun tipo di gravità.

— 51 —

cessent bientôt de s'accroître et ne se transforment pas en spores. (Pl. I, fig. 14). Hoffmann avait observé des faits à peu près identiques sur les bactéries¹.

Il est assez remarquable que les spores ne se développent que très difficilement dans les liquides ayant servi à les produire, c'est-à-dire que lorsque les bactéries ont donné des spores dans une préparation, ces dernières restent à l'état de spores dans ce liquide et ne se développent point, quoique les conditions de température et d'oxygénation soient encore suffisantes; elles peuvent être plusieurs jours sans passer à l'état de bactéries, tandis que quelques heures suffisent pour provoquer leur développement, si on les place dans un nouveau liquide de culture.

Les bactéries cultivées peuvent donner naissance à de véritables *sporangies polyspores* (Pl. I, fig. 15). En cultivant des spores de bactéries dans le sérum du sang du chien, les filaments prennent un diamètre transversal presque double du diamètre ordinaire, puis le protoplasma du filament s'amasse en certains points, ce qui se distingue nettement en ce que, dans les parties où le protoplasma manque, la bactérie a perdu toute réfringence. Dans une dernière période, les points occupés par le protoplasma condensé augmentent considérablement de volume et forment des organes ovoïdes plus ou moins allongés ou bien renflés en boules ou en forme de gourde à l'une des extrémités. Dans l'intérieur de ces sporangies se forment enfin de trois à six ou huit spores, très nettes et très réfringentes, puis par dissociation de la membrane

¹ Hoffmann, *Ann. de Sc. nat.* 1869, t. XI, p. 9.

essi cessano di accrescersi e non si trasformano in spore. Hoffman aveva osservato dei fatti pressappoco identici sui batteri⁴.

È abbastanza notevole che le spore non si sviluppano se non con molta difficoltà nei liquidi che sono serviti a produrle, vale a dire che quando le *bactéridies* hanno prodotto spore in un preparato, quest'ultime restano allo stato di spore in questo liquido e non si sviluppano affatto per quanto le condizioni di temperatura e di ossigenazione siano sufficienti; quelle possono rimanere per giorni senza passare allo stato di *bactéridies* mentre bastano alcune ore a provocare il loro sviluppo, se le si colloca in un nuovo liquido di coltura. I batteri coltivati possono dar origine a delle vere Sporangies polyspore. Coltivando le spore delle *bactéridies* nel siero del sangue di un cane, i filamenti assumono un diametro trasversale quasi doppio del diametro ordinario, poi il protoplasma del filamento si ammucchia in certi punti, ciò che è di rilievo in questo caso chiaramente è che, nelle parti dove il protoplasma manca, la *bactéridie* ha perso tutta la rifrangenza. In un ultimo stadio, i punti occupati dal protoplasma condensato aumentano considerevolmente di volume e formano organi ovoidali più o meno allungati o ben gonfi come palle o a forma di lagenaria ad una delle estremità. All'interno di questi sporangi si formano infine 3, 6 o 8 spore, molto chiare e rifrangenti, poi per dissociazione

⁴ Hoffmann, *Ann. de Sc. Nat.* 1869, i, XI, p. 9.

— 52 —

d'enveloppe, les spores deviennent libres. Ces spores, ainsi formées, reproduisent des bactériidies ordinaires.

Toutes les expériences entreprises sur la culture des bactériidies du charbon montrent ces microphytes comme des êtres avides d'oxygène, ne pouvant se développer en dehors de la présence de ce gaz et se multipliant d'autant plus rapidement que la proportion en est plus considérable. Dans les cultures en ballon, il suffit de quelques heures pour montrer de larges et épais flocons de mycélium; par contre, dans les parties centrales des bornes de chambre humide, on n'observe qu'une végétation pauvre, lente et incomplète; les bactériidies qui se développent en ces points n'arrivent pas à produire des spores.

Si on fait l'application de ces données à l'étude de la reproduction des bactériidies dans l'économie des animaux charbonneux, on est bien vite frappé du peu d'activité manifesté par les parasites introduits dans l'épaisseur des tissus; jamais ces bactériidies ne produisent ces longs filaments des cultures; même dans les points où elles forment des amas extravasculaires et où l'épanchement lymphatique est très abondant, malgré les excellentes conditions de température et de nutrition dans lesquelles elles se trouvent, elles restent toujours relativement courtes et formées tout au plus de 3 ou 4 segments; il est rare d'en rencontrer 5 ou 6; l'oxygène qui se trouve en trop petite quantité dans la lymphe épanchée, leur manquant pour se développer, on ne les voit jamais dans ces conditions se transformer en spores; même lorsque les animaux ne meurent que le quatrième ou le cinquième jour de l'inoculation, les bactériidies du point primitivement inoculé n'en ont pas fourni. De même chez les

dalla membrana di sviluppo, le spore diventano libere. Queste spore così formate riproducono *bactéridies* ordinarie.

Tutti gli esperimenti intrapresi sulla coltura delle *bactéridies* del carbonchio mostrano queste microfite come degli esseri avidi di ossigeno, che non possono svilupparsi senza la presenza di questo gas e che si moltiplicano tanto più rapidamente quanto più la proporzione è considerevole. Nelle colture in boccetta, basta qualche ora per mostrare ampi e fitti fiocchi di micelio; al contrario, nella parte centrale delle estremità della camera umida, si osserva una vegetazione povera, lenta ed incompleta; le *bactéridies* che si sviluppano in questi punti non arrivano a produrre spore.

Se si applicano questi dati allo studio della riproduzione delle *bactéridies* nell'economia degli animali carbonchiosi, si rimane ben presto stupiti della scarsa attività manifestata dai parassiti introdotti nello spessore dei tessuti: mai queste *bactéridies* riproducono i lunghi filamenti delle colture; e anche nei punti in cui esse formano degli ammassi extravascolari e in cui il versamento linfatico è molto abbondante, nonostante le eccellenti condizioni di temperatura e di nutrizione nelle quali si trovano, esse restano sempre relativamente corte e formate tutt'al più da 3 o 4 segmenti; è raro trovarne 5 o 6; l'ossigeno che si trova in piccola quantità nel liquido versato, manca loro per svilupparsi, e non li si vede mai in queste condizioni trasformarsi in spore; anche quando gli animali non muoiono che al 4° o 5° giorno di inoculazione, le *bactéridies* del punto originariamente inoculato non ne hanno prodotto.

— 53 —

animaux morts spontanément du charbon, on trouve les bactériidies des ganglions primitivement infectés, granuleuses, irrégulières, en grande partie désagrégées; elles sont peu actives, un grand nombre paraissent mortes. Dans le sang, elles sont toujours plus courtes encore que dans les tissus, ce qu'on pourrait attribuer aux mouvements du liquide qui séparerait les segments. Une explication de ces faits qui semble rationnelle quand on la compare à l'évolution si active des bactériidies cultivées dans les liquides artificiels ou naturels très oxygénés, c'est que les bactériidies végètent pauvrement dans l'économie. qu'elles n'y trouvent les conditions de leur vitalité qu'en quantité strictement suffisante, et qu'il devrait suffire de diminuer très peu ces conditions favorables pour empêcher complètement leur développement. Et de fait, ne voyons-nous pas un certain nombre d'animaux rester réfractaires au charbon, et cela dans toutes les espèces? et même nous constaterons que des espèces entières résistent à cette maladie. J'ai inoculé vainement des porcs; je n'ai jamais pu obtenir autre chose que des phlegmons des ganglions lymphatiques; l'injection dans les vaisseaux sanguins n'a pas mieux réussi; les ânes vieux sont presque toujours réfractaires, même à l'injection intravasculaire; il en est ainsi, quoique à un degré moins accentué, des vieux chevaux. M. Pasteur a démontré que les oiseaux doivent être placés dans des conditions spéciales pour contracter la maladie; enfin j'ai conservé longtemps une vieille brebis, tout à fait réfractaire, qui a résisté à des doses capables de tuer les animaux de plusieurs troupeaux. Les chiens âgés s'inoculent aussi très-difficilement ou même pas du tout. Deux inoculations

Anche negli animali morti spontaneamente di carbonchio, si trovano le *bactéridies* delle ghiandole originariamente infette, granulose, irregolari, in gran parte disgregate; esse sono poco attive, un gran numero sembrano morte. Nel sangue, esse sono sempre più corte come nei tessuti, cosa che si può attribuire ai movimenti del liquido che separava i segmenti. Una spiegazione di questi fatti che sembra razionale quando la si compara all'evoluzione così attiva delle *bactéridies* coltivate nei liquidi artificiali o naturali molto ossigenati, è che le *bactéridies* vegetano poveramente nell'economia, che esse non vi trovano le condizioni per la loro vitalità se non in quantità strettamente sufficiente e che dovrebbe bastare diminuire un po' le condizioni favorevoli per impedire completamente il loro sviluppo. E, di fatto, non vediamo un certo numero di animali rimanere refrattari al carbonchio e questo in tutte le specie? ed anche noi constateremo che intere specie resistono a questa malattia. Ho inoculato vanamente dei porci; io non ho mai potuto ottenere altro che dei flemmoni dei gangli linfatici; l'iniezione nei vasi sanguigni non è riuscita meglio; gli asini vecchi sono quasi sempre refrattari, anche all'iniezione intravascolare; e così anche per i vecchi cavalli, sebbene in un grado meno accentuato. Il Signor Pasteur ha dimostrato che gli uccelli devono essere messi in speciali condizioni per contrarre la malattia; infine ho conservato per lungo tempo una vecchia pecora, completamente refrattaria, che ha resistito a dosi capaci di uccidere gli animali di tutte le greggi. I cani anziani si inoculano molto difficilmente o per niente.

— 54 —

successives par plusieurs piqûres, n'ont absolument rien produit sur une vache phtisique dont la température était, il est vrai, assez élevée (40°).

Les exemples, on le voit, sont nombreux et faciles à multiplier; ils invitent à la méditation et doivent provoquer les recherches exactes des conditions qui empêchent le développement des parasites. Il y a là tout un coin encore inexploré de la question, qui me paraît être de la plus haute importance au point de vue des mesures à prendre pour combattre la maladie.

Les cultures démontrent donc que la bactériodie se présente sous deux états, celui de bâtonnets ou de mycélium, et celui de spores ou corpuscules germes. Les premiers sont peu résistants; une chaleur de 50° agissant sur eux pendant quelques minutes, la putréfaction, l'action des liquides antiseptiques très dilués suffisent pour les tuer. On ne peut guère les conserver en nature qu'en desséchant rapidement le sang qui les renferme à une température inférieure à 42°. Mais il n'en est pas de même des corpuscules brillants: ceux-ci, une fois formés, résistent à des températures élevées, à la putréfaction, à l'humidité, et après plusieurs années ils ont conservé toute leur puissance; placés sous l'épiderme d'un animal apte à contracter le charbon ou dans un liquide de culture, ils s'allongent, reforment des bactériodies qui se multiplient rapidement par scission et entraînent la mort des animaux inoculés; ils possèdent par conséquent tous les caractères toxiques des bactériodies récemment extraites du sang frais et causent les mêmes ravages.

Les faits qui viennent d'être exposés sont d'une impor-

Due inoculazioni successive con più punture, non hanno assolutamente prodotto niente su una vacca tifica la cui temperatura, era, in verità, abbastanza elevata (40°). Gli esempi, come si vede, sono numerosi e facili da riprodursi: invitano alla meditazione e devono promuovere le ricerche esatte delle condizioni che impediscono lo sviluppo dei parassiti. A questo riguardo c'è un aspetto ancora inesplorato di questo argomento che mi sembra essere della massima importanza dal punto di vista delle misure da prendere per combattere la malattia.

Le colture dimostrano dunque che la *bactéridie* si presenta sotto forma di due stati, sotto forma di bastoncelli o di micelio e sotto forma di spore o corpuscoli – germi. I primi sono poco resistenti; se un calore di 50° agisce su di essi per qualche minuto, la putrefazione, l'azione dei liquidi antisettici molto diluiti bastano per ucciderli. Non li si può conservare molto in natura se non essiccando rapidamente il sangue che li contiene ad una temperatura inferiore ai 42°. Non è lo stesso per i corpuscoli lucenti: codesti, una volta formati, resistono a temperature elevate, alla putrefazione, all'umidità e dopo parecchi anni hanno conservato tutta la loro virulenza; inoculati sotto l'epidermide di un animale adatto a contrarre il carbonchio o in un liquido di coltura, essi si allungano, riformano le *bactéridies* che si moltiplicano rapidamente per scissione causando la morte degli animali inoculati; possiedono di conseguenza tutte le caratteristiche tossiche delle *bactéridies* recentemente estratte dal sangue fresco e causano gli stessi danni.

I fatti appena esposti sono di un'importanza

— 55 —

tance capitale au point de vue de l'interprétation des phénomènes de transmission du charbon et de sa réapparition dans une localité où, depuis plusieurs mois ou même plusieurs années, il n'avait pas fait de victimes.

On comprend très bien, en effet, que des spores formées quelques heures après la mort d'un animal tué par le charbon et abandonné sur le sol, se soient conservées sur la terre ou les plantes, et que, plus tard, placées dans des conditions favorables, c'est-à-dire dans une plaie chez un animal, elles se développent et causent la mort de cet animal. J'ajoute cependant que cette manière de concevoir la contagion du charbon n'est qu'une hypothèse, qui a pour elle aujourd'hui beaucoup de chances d'être reconnue exacte, mais qui, de même que toutes les inductions, devra être démontrée par des expériences directes.

Mais quel que soit le mode de conservation des bactéries ou de leurs spores, je crois qu'il est possible d'affirmer à l'heure actuelle : 1° que le charbon n'est jamais spontané dans le sens littéral du mot ; 2° qu'il faut, pour son développement, qu'il y ait inoculation de bactéries ou de leurs spores.

capitale dal punto di vista dell'interpretazione dei fenomeni di trasmissione del carbonchio e del suo riapparire in una località in cui, dopo parecchi mesi o anche parecchi anni, non aveva fatto delle vittime.

Si comprende molto bene, in effetti, che le spore formate alcune ore dopo la morte di un animale ucciso dal carbonchio e abbandonato al sole, si siano conservate sulla terra o sulle piante, e che, più tardi, in condizioni favorevoli, vale a dire in una ferita di un animale, si sviluppino causando la morte di questo animale. Aggiungo tuttavia, che questo modo di concepire il contagio del carbonchio non è che un'ipotesi, che ha oggi molte possibilità di essere riconosciuta come esatta, ma che, come tutte le induzioni, dovrà essere dimostrata attraverso esperimenti diretti. Ma qualunque sia il modo di propagazione delle *bactéridies* o delle spore, credo sia possibile affermare attualmente:

- 1) che il carbonchio non è mai spontaneo nel senso letterale del termine;
- 2) che per il suo sviluppo occorre che vi sia stata un'inoculazione delle *bactéridies* o delle spore.

VIII

SYMPTOMES ET DURÉE DE LA MALADIE

A. SYMPTOMES

J'ai placé la description des symptômes du charbon à la suite de l'étude anatomo-pathologique, car il m'a paru que cette marche me permettrait de montrer plus nettement la relation qui existe entre les désordres et leurs manifestations extérieures. Quoique je n'aie eu l'occasion de suivre aucun cas de charbon dit spontané, la facilité avec laquelle on reproduit dans les laboratoires une maladie de tous points identique à celle des troupeaux, et la similitude qui existe entre les lésions chez les uns et les autres, me persuadent que les symptômes ne doivent pas différer.

Les oiseaux et le porc, pour lesquels la plupart des auteurs ont décrit des maladies charbonneuses, sont absolument réfractaires. La discussion qui s'est élevée à l'Académie de médecine entre M. Pasteur et M. Colin au sujet du *charbon des poules* a eu un tel retentissement qu'il est inutile d'insister. — M. Colin, qui, autrefois,

VIII
SINTOMI E DURATA DELLA MALATTIA
A. SINTOMI

Ho collocato la descrizione dei sintomi del carbonchio di seguito allo studio anatomico-patologico, perché mi è sembrato che questo metodo mi permettesse di mostrare più chiaramente la relazione esistente tra i disordini e le loro manifestazioni esteriori. Sebbene io non abbia avuto l'occasione di seguire alcun caso di carbonchio spontaneo, la facilità con la quale si riproduce nei laboratori una malattia sotto tutti gli aspetti identica a quella delle greggi, e la somiglianza che esiste tra le lesioni dell'una e dell'altra, mi persuadono a pensare che i sintomi non devono differire.

Gli uccelli e il maiale, per i quali la maggior parte degli autori hanno descritto le malattie carbonchiose, sono assolutamente refrattari. La discussione che si è sollevata all'Accademia di medicina tra il Signor Pasteur e il Signor Colin sul tema del carbonchio dei polli ha avuto una tale risonanza che è inutile insistervi. Il Signor Colin, che

— 120 —

donnait si facilement le charbon aux poules, a été obligé de reconnaître qu'elles sont absolument réfractaires dans les conditions normales, et M. Pasteur a démontré que cette inaptitude tient à une cause physique, la température très élevée des oiseaux.

Je puis dire aussi que, dans les conditions ordinaires, le porc ne contracte pas le charbon ; les maladies décrites comme charbonneuses sont d'une tout autre nature.

Quant aux diverses formes qui ont été reconnues chez les animaux d'espèces aptes à devenir charbonneuses et que Chabert avait distinguées en *charbon essentiel*, *symptomatique fièvre charbonneuse*, je crois qu'il faut ne les accepter qu'avec la plus grande circonspection.

Les formes de charbon dites essentielles et symptomatiques (ces dernières surtout) devront être révisées avec soin avant d'être admises dans la catégorie des affections charbonneuses ; en ce qui me concerne, je n'admets qu'une seule forme, la maladie charbonneuse, celle désignée encore sous le nom de fièvre charbonneuse.

C'est la seule forme dont l'authenticité soit démontrée.

Les symptômes seront examinés chez le lapin, le mouton, le cheval et le chien.

Chez tous ces animaux, il s'écoule un temps variable entre le moment de l'inoculation et l'apparition des premiers symptômes ; la durée de ce temps dépend du nombre, de l'activité des parasites inoculés et du plus ou moins de rapidité avec laquelle ils sont arrivés dans le sang. Cette première période, celle de la formation des désordres locaux ganglionnaires, n'est révélée le plus souvent par aucun signe extérieur. Cependant, si l'on observe avec attention les animaux, et surtout si on fait l'examen mi-

un tempo aveva così facilmente parlato di carbonchio dei polli, è stato obbligato a riconoscere che essi sono assolutamente refrattari in condizioni normali e il Signor Pasteur ha dimostrato che questa capacità ha origine in una causa fisica, la temperatura molto elevata degli uccelli.

Io posso anche dire che, in condizioni ordinarie, il maiale non contrae il carbonchio; le malattie descritte come carbonchiose sono di tutt'altra natura. Quanto alle diverse forme che sono state riconosciute negli animali di specie adatte a diventare carbonchiose e che Chabert aveva distinto in carbonchio essenziale, sintomatico e febbre carbonchiosa, credo che si debbano accettare con la più grande cautela.

Le forme di carbonchio dette essenziali e sintomatiche (quest'ultime soprattutto) dovranno essere revisionate con cura prima di essere ammesse nella categoria delle affezioni carbonchiose; per quanto mi concerne io non ne ammetto che una sola forma, la malattia carbonchiosa, quella indicata ancora con il nome di febbre carbonchiosa.

È la sola forma la cui autenticità sia dimostrata. I sintomi saranno esaminati nel coniglio, pecora, cavallo e nel cane. In tutti questi animali, intercorre un tempo variabile tra il momento dell'inoculazione e la comparsa dei primi sintomi; la durata di questo tempo dipende dal numero, dall'attività dei parassiti inoculati e dalla più o meno rapidità con la quale sono arrivati nel sangue. Questo primo periodo, quello della formazione dei disordini locali gangliari, non è manifestato il più delle volte da alcun segno esteriore. Tuttavia, se si osservano con attenzione gli animali e, soprattutto, se

— 121 —

microscopique du sang, on peut constater la leucocythémie qui précède toujours l'apparition des bactériidies et souvent une légère fièvre. Ces symptômes sont plus difficiles à constater chez le lapin que chez le mouton et le cheval. Sur un mouton ayant vécu sept jours après l'inoculation de spores, j'ai observé, deux jours avant la mort, une légère fièvre, l'animal mangeait peu, restait constamment couché, sa respiration et son pouls s'étaient accélérés, la température avait monté de plusieurs dixièmes de degré ; le sang examiné ne présentait qu'une légère augmentation du nombre des globules blancs, mais les globules rouges commençaient à s'agglutiner. Ces symptômes, toujours légers et qui n'ont rien de caractéristique, s'observent chez tous les animaux dans cette première période.

A partir du moment où les bactériidies se trouvent en certaine quantité dans le sang, les symptômes manifestés peuvent revêtir les caractères les plus dissemblables, non seulement dans les espèces différentes, mais aussi dans les divers sujets d'une même espèce.

Chez le lapin, on peut dire que les symptômes sont négatifs. Deux heures environ avant le moment où la mort doit arriver, l'animal qui jusque-là n'avait manifesté aucun symptôme morbide, paraît inquiet, change souvent de place, urine fréquemment, a de temps à autre des mouvements brusques, mais sans paraître éprouver de souffrances vives ; la respiration s'accélère, le pouls reste encore normal.

Bientôt ces symptômes s'aggravent, le nombre des mouvements respiratoires augmente rapidement : de quarante, ils peuvent s'élever à quatre-vingt-dix ou cent. Les battements du cœur diminuent plutôt ; d'abord forts

si fa l'esame microscopico del sangue, si può constatare la leucocitemia che precede sempre la comparsa delle bactéridies e spesso una leggera febbre. Questi sintomi sono più difficili da constatare nel coniglio rispetto alla pecora ed al cavallo. Su una pecora vissuta sette giorni dopo l'inoculazione delle spore, io ho osservato due giorni prima della morte, una leggera febbre, l'animale mangiava poco, restava costantemente seduto, la sua respirazione ed il suo polso restavano accelerati, la temperatura era salita di parecchie decine di gradi; il sangue esaminato non presentava che un leggero aumento del numero dei globuli bianchi, ma i globuli rossi cominciano a incollarsi. Questi sintomi, sempre leggeri e che non hanno niente di caratteristico, si osservano in tutti gli animali in questo primo periodo. A partire dal momento in cui le bactéridies si trovano in certa quantità nel sangue, i sintomi manifestati possono rivestire i caratteri più diversi, non solamente nelle specie diverse ma anche in diversi soggetti di una stessa specie. Nel coniglio si può dire che i sintomi sono negativi. Due ore circa prima del momento in cui la morte deve arrivare, l'animale, che fino a quel momento non aveva manifestato alcun sintomo morboso, sembrava inquieto, cambia spesso luogo, urina frequentemente, di tanto in tanto ha dei movimenti bruschi, ma senza sembrare di provare delle acute sofferenze; la respirazione accelera, il polso resta ancora normale.

Presto questi sintomi si aggravano, il numero dei movimenti respiratori aumenta rapidamente: da quaranta può arrivare a novanta o cento. I battiti del cuore diminuiscono alquanto; dapprima forti e affannosi, si diradano e si indeboliscono.

— 122 —

et précipités, ils s'espacent et faiblissent. L'animal, indifférent à ce qui se passe autour de lui, ne cherche plus à s'enfuir, il tombe dans une sorte de sommeil; les yeux restent ouverts, sans clignotements, la tête s'abaisse lentement, et de temps en temps il la relève comme un homme qui lutte contre l'assoupissement. Si un bruit soudain le réveille et qu'il cherche à s'enfuir, ses mouvements deviennent incertains, mal coordonnés, et souvent ses efforts n'ont pour résultat que de le faire tomber sur le côté. Bientôt il s'affaisse sur ses membres antérieurs, le nez sur le sol; il semble n'avoir plus conscience de sa situation, le coma devient de plus en plus profond, la respiration et la circulation diminuent d'intensité, la sensibilité disparaît et l'animal meurt après deux ou trois convulsions légères, avec une température de 32° à 34°, quelquefois 30° seulement.

Si on pratique la respiration artificielle chez ces animaux, et qu'on ouvre la cavité thoracique pour mieux étudier les battements du cœur, on constate que, dans les derniers moments, le cœur droit éprouve une très grande difficulté à se vider et finit même par se laisser distendre; le sang s'accumule dans les grosses veines. Pendant ce temps, le cœur gauche bat presque à vide, ses contractions sont fortes, mais l'aorte, recevant peu de liquide, n'imprime qu'un mouvement lent au sang artériel; la section d'un vaisseau volumineux comme l'artère humérale ne donne souvent que quelques gouttes de sang. J'ai en outre mesuré la quantité de globules du sang artériel comparativement avec celle du sang veineux, et j'ai constaté une différence de plus de 1 million par millimètre cube à l'avantage du sang veineux. J'attribue à la quan-

L'animale, indifferente a ciò che succede intorno a loro, non cerca più di scappare e cade in una sorta di sonno; gli occhi restano aperti, senza battere le ciglia, la testa si abbassa lentamente e di tanto in tanto la solleva come un uomo che lotta contro l'assopimento. Se un rumore improvviso lo risveglia e cerca di scappare, i suoi movimenti diventano incerti, coordinati male, e spesso i suoi sforzi non ottengono come risultato che quello di farlo cadere su un fianco. Quando si accascia sugli arti anteriori, il muso tocca il suolo; sembra non avere più coscienza della sua situazione, il coma diviene sempre più profondo, la respirazione e la circolazione diminuiscono di intensità, la sensibilità sparisce e l'animale muore dopo 2 o 3 convulsioni leggere, con una temperatura di 32-34°, alcune volte soltanto, 30°. Se si pratica la respirazione artificiale in questi animali e se si apre la cavità toracica per meglio studiare i battiti del cuore, si constata che, negli ultimi momenti, il cuore del ventricolo destro prova una grande difficoltà a svuotarsi e finisce anche per lasciarsi dilatare; il sangue si accumula in grosse vene. Durante questo periodo, il cuore del ventricolo sinistro batte a vuoto, le sue contrazioni sono forti, ma l'aorta, ricevendo poco liquido, non imprime che un movimento lento al sangue arterioso; la sezione di un vaso voluminoso come l'arteria umorale non dà spesso che alcune gocce di sangue. Inoltre ho misurato la quantità di globuli di sangue arterioso in paragone a quello del sangue venoso, e ho constatato una differenza di più di un milione per mm³ a vantaggio del sangue venoso.

— 123 —

tité de bactériidies qui oblitère les vaisseaux pulmonaires cette espèce de filtration du sang et son accumulation dans le cœur droit.

Les symptômes présentés par le mouton sont quelque fois presque identiques à ceux des lapins, mais généralement ils sont beaucoup plus accentués. L'animal conserve son embonpoint et ne paraît souffrir réellement que trois à quatre heures avant le moment de la mort; il semble très gai, cependant sa température s'est élevée de un à deux degrés; puis, presque tout à coup, en quinze à vingt minutes des symptômes graves se déclarent. On le voit trembler, chanceler, tomber sur le sol, rejeter par intermittences une urine rosée renfermant des globules sanguins et des bactériidies très longues. La température s'élève progressivement jusqu'à 3° au-dessus de la normale. Des crampes ou des convulsions apparaissent. En général, les muscles des membres et du cou sont comme tétanisés, la tête se renverse en arrière, les dents grincent l'une contre l'autre, les yeux roulent dans l'orbite, puis la respiration devient plus rapide et sifflante. Le sang examiné à ce moment montre une immense quantité de bactériidies; souvent les capillaires superficiels sont tout à fait exsangues, et il devient nécessaire de faire des incisions profondes ou de blesser de gros vaisseaux pour avoir une goutte de sang. Le pouls devient petit, filant, presque insensible; les artères, revenues sur elles-mêmes, sont molles, très dépressibles; les incisions ne donnent plus qu'un jet sans force qui s'éteint à quelques décimètres de la plaie. Enfin, après une heure au plus l'animal expire au milieu d'une convulsion tétanique.

Les signes de douleur manifestés dans les dernières

Attribuisco alla quantità di bactériidies che costituiscono i vasi polmonari questa specie di filtrazione di sangue e il suo accumulo nel cuore destro. I sintomi presentati dalla pecora sono alcune volte quasi identici a quelli dei conigli ma generalmente sono più accentuati. L'animale conserva la sua rotondità e non sembra soffrire realmente che 3 o 4 ore prima della morte; sembra molto contento, tuttavia la sua temperatura si è alzata da uno a due gradi; poi, quasi improvvisamente, in 15 o 20 minuti i sintomi gravi si manifestano. Lo si vede tremare, barcollare, cadere al suolo, rigettare a intervalli un'urina rosa contenente dei globuli sanguigni e delle bactériidies molto lunghe. La temperatura si alza progressivamente fino a 3° sopra la media. Appaiono crampi e convulsioni. In generale i muscoli degli arti e del collo sono come metanizzati, la testa si capovolge all'indietro, digrigna i denti, gli occhi ruotano nell'orbita poi, la respirazione diventa più rapida e sibilante. Il sangue esaminato in questo momento mostra una grande quantità di bactériidies; spesso i capillari superficiali sono del tutto esangui e diventa necessario fare delle profonde incisioni o provocare una ferita nei vasi grossi per avere una goccia di sangue. Il polso diviene lento, debole, quasi insensibile; le arterie sono molli, sgonfie; le incisioni non danno più che un getto senza forza che si spegne a qualche decimetro dalla ferita. Infine dopo un'ora o poco più l'animale espira in mezzo ad una convulsione tetanica.

124 —

heures de la vie de ces animaux sont dus assurément aux hémorragies des organes internes. Je crois que les symptômes nerveux, crampes, disparition de la sensibilité extérieure, perte des mouvements réflexes de la paupière lorsqu'on vient à toucher le globe de l'œil, coma, sont causés par la disparition des fonctions encéphaliques et médullaires, suite de l'anémie due aux oblitérations dont les centres nerveux sont toujours le siège.

Voici une observation recueillie sur un cheval inoculé. Elle donnera une idée assez nette, je crois, des symptômes observés sur cette espèce.

30 novembre 1877. — Inoculation d'une jument alezane, vieille, mais très vigoureuse. 8 respirations, 28 pulsations. Température 38°.

1^{er} Décembre. — L'animal ne paraît pas malade. 8 respirations, 35 pulsations. Température 38°.

2 Décembre. — Le matin la jument semble un peu triste, mais cependant elle cherche encore à manger. Le nombre de ses pulsations a augmenté. Il est à 50. 7 respirations seulement. Température 39°.

A 11 heures, elle est plus triste encore. 7 respirations, 73 pulsations. Température 39° 6/10.

A 2 heures, grande tristesse, frisson. L'animal porte la tête basse, change constamment ses membres de place et enfin il se couche. Le sang examiné montre de grandes quantités de bactériidies. 14 respirations, 72 pulsations.

2 h. 40. — La jument se lève et parvient à se maintenir debout après plusieurs tentatives infructueuses. La station est très instable. L'animal s'appuie au mur, écarte les membres postérieurs. 27 respirations, 124 pulsations.

I segni di dolore manifestati nelle ultime ore di vita degli animali sono dovute sicuramente alle emorragie degli organi interni. Io credo che i sintomi nervosi, i crampi, la sparizione della sensibilità esterna, la perdita dei movimenti riflessi delle palpebre che giunge fino a raggiungere il globo oculare, il coma, sono causati dalla sparizione delle funzioni encefaliche e midollari, in seguito all'anemia dovuta all'ostruzione, dei quali i centri nervosi sono sempre la sede. Ecco un'osservazione raccolta su un cavallo inoculato. Questa darà un'idea abbastanza chiara, io credo, dei sintomi osservati su questa specie. 30/11/1877. Inoculazioni di una giumenta saura, vecchia ma molto vigorosa. 8 respirazioni, 28 pulsazioni. Temp. 38°. 1/12/1877. L'animale non sembra malato. 8 respirazioni, 35 pulsazioni.

Temp. 38°. 2/12/1877. Il mattino la giumenta sembra un po' triste ma tuttavia cerca ancora di mangiare. Il numero delle sue pulsazioni è aumentato. È a 50°. 7 respirazioni soltanto. Temp. 39°. Alle 11 è ancora più giù di tono. 7 respiri, 73 pulsazioni. Temp. 39.6°. Alle 2, grande tristezza, tremolio. L'animale ha la testa bassa, cambia costantemente gli arti di posto e infine si corica. Il sangue esaminato mostra una grande quantità di bactériidies. 14 respiri, 72 pulsazioni. Alle 2 e 40. La giumenta si alza e arriva a stare in piedi dopo numerosi tentativi infruttuosi. La postura è molto instabile. L'animale si appoggia al muro, allontana gli arti posteriori. 27 respiri, 124 pulsazioni.

— 125 —

Température 40° 5. Sueurs, frissons intenses, oreilles et extrémités froides.

2 h. 55. — La malade se couche.

Respirations bruyantes et profondes, 26 à la minute. 84 pulsations petites, irrégulières, avec un rythme particulier. Après 8 ou 10 pulsations petites et très rapprochées il y a arrêt du cœur, puis 2 ou 3 pulsations fortes, largement espacées, après quoi en surviennent de faibles et rapprochées. Température 39° 6.

3 h. 20. — L'animal parvient à se relever et reste debout, les quatre membres écartés. Pouls et respiration dans le même rythme.

3 h. 45. — Symptômes de coliques violentes, sueurs, aspect parfois comateux, dont il est réveillé par les coliques. Mouvements respiratoires difficiles, au nombre de vingt-huit. L'animal cherche à se mettre sur le sternum, mais il n'y parvient pas, il rejette la tête vers son flanc et la laisse tomber sur le nez. Temp. 39° 7, 140 pulsations.

4 h. 45. — Les coliques sont toujours aussi intenses. Mouvements spasmodiques des membres, lèvre inférieure pendante, langue sèche, violacée, hors de la bouche. La température baisse : 38° 9. Les frissons sont de plus en plus graves.

5 heures. — Le frisson agite les quatre membres. Les symptômes s'aggravent, le pouls est extrêmement petit, on ne le perçoit plus à travers la peau. Je mets la carotide à nu, et même en la pressant entre les doigts c'est à peine si je parvins à sentir le pouls. L'incision nécessaire ne donne pas de sang et ne réveille pas l'animal de son état comateux. La jugulaire est remplie, dure et gonflée, les incisions à la langue ne font pas naître d'hémor-

Temperatura 40.5°. Sudori, tremiti intensi, orecchie e estremità fredde.

2.55 h. Il malato si corica. Respirazione rumorosa e profonda, 26 al minuto. 84 pulsazioni deboli, irregolari, con un ritmo particolare. Dopo 8 o 10 piccole pulsazioni e molto vicine il cuore si ferma, poi 2 o 3 pulsazioni forti, largamente distanziate dopo di che s'appraggiungono deboli e ravvicinate. Temperatura 39.6°.

3.45 h. Sintomi di coliche violente, sudori, aspetto talvolta comatoso, dal quale è risvegliato dalle coliche. Movimenti respiratori difficili, in numero di 28. L'animale cerca di mettersi (poggiarsi) sullo sterno ma non ci riesce, butta la testa sul fianco e la lascia cadere sul naso. Temp. 39.7, 140 pulsazioni.

4.45 h. Le coliche sono sempre intense. Movimento spasmodico degli arti, labbro inferiore penzolante, lingua secca, violacea, fuori dalla bocca. La temperatura si abbassa: 38.9°. I brividi sono sempre più forti.

5 h. Il fremito agita i quattro arti. I sintomi si aggravano, il polso è estremamente debole, non lo si percepisce più attraverso la pelle. Metto la carotide a nudo e anche pressandola tra le dita, è a malapena che riesco a sentire il polso. L'incisione necessaria non procura sangue e non risveglia affatto l'animale dal suo stato comatoso. La giugulare è piena, dura e gonfia, le incisioni nella lingua non fanno nascere

— 126 —

rhagie, l'œil pirouette dans l'orbite, plus de clignotements, la sensibilité est complètement abolie.

Ces phénomènes vont en augmentant d'intensité, et enfin à 5 h. 20 le sujet meurt sans convulsions, après cinq ou six contractions générales très faibles. La température au moment de la mort est de 38° 8.

Ces symptômes sont tout à fait en corrélation avec les lésions signalées. On peut reconnaître dans cette observation la présence des signes d'asphyxie et de coliques avec hémorrhagies intestinales.

B. DURÉE

Elle est très variable. Il faut attribuer à la quantité de bactériidies introduites, au lieu de l'inoculation, au nombre des ganglions, les différences très grandes que l'on a observées dans les divers cas. Après des inoculations aux oreilles, certains lapins sont morts en 18 heures. Le plus grand nombre résiste de 22 à 25 heures, enfin quelques-uns dépassent cette limite. J'ai vu une fois seulement un lapin mourir au bout de 101 heures d'inoculation. Les lésions qu'il présenta à l'autopsie ne se rencontrèrent que dans ce seul cas. Il y avait eu des ruptures vasculaires, les bactériidies remplissaient le tissu conjonctif de l'intestin, et les parois de ce viscère, œdématisées, avaient quadruplé d'épaisseur.

Chez le mouton, la maladie dure de deux à trois jours, lorsqu'on inocule du sang charbonneux frais; elle peut avoir une durée beaucoup plus longue. J'ai constaté un fait de sept jours après injection de liquide renfermant des spores. Mon collègue, M. Peuch, a bien voulu me

Emorragie, l'occhio proietta nell'orbita, non c'è più il battere delle ciglia, la sensibilità è sparita. Questi fenomeni vanno aumentando di intensità e infine alle 5.20 il soggetto muore senza convulsioni, dopo cinque o sei contrazioni generali molto deboli. La temperatura al momento della morte è di 38.8°. Questi sintomi sono completamente in correlazione con le lesioni segnalate. Si può riconoscere in queste osservazioni la presenza di segni di asfissia e di coliche con emorragie intestinali.

B. DURATA

Questa è molto variabile. Bisogna attribuire alla quantità di bactériidies introdotti, nel luogo dell'inoculazione, nel numero di gangli, le differenze molto grandi che si osservano nei diversi vasi. Dopo le inoculazioni nelle orecchie, certi conigli sono morti in diciotto ore. La maggior parte resiste da 22 a 25 ore, infine alcuni sorpassano questo limite. Ho visto una sola volta un coniglio morire dopo 101 ore dall'inoculazione. La lesione che presentava nell'autopsia non si riscontrerà che solo in questo caso. Aveva avuto delle rotture vascolari, le bactériidies riempivano il tessuto connettivo dell'intestino e le pareti di queste viscere, edematiche, avevano quadruplicato il loro spessore. Nella pecora, la malattia dura da due a 3 giorni quando si inocula del sangue carbonchioso fresco; questa può avere una durata molto più lunga. Ho constatato un caso di

— 127 —

communiquer un cas de plus longue durée encore. Une brebis, inoculée par lui avec le sang d'une chèvre morte du charbon, ne succomba que neuf jours après.

La durée de la vie chez le cheval après le moment de l'inoculation varie dans des limites assez étendues. Le plus souvent l'animal meurt au bout de trois à cinq jours, mais on en voit résister six et sept jours.

Quant aux animaux qui succombent dans les troupeaux infectés, la gravité et l'étendue des lésions locales, l'état des ganglions et surtout l'état granuleux qu'ont subi les bactériidies, portent à croire que la maladie dure davantage encore. Je n'hésite pas à affirmer que dans la majorité des cas de charbon dit spontané, le temps qui sépare la pénétration des spores du moment de la mort ne doit pas être moindre de dix à douze jours.

Ainsi qu'on peut le voir, ces recherches amènent à des résultats bien différents de ceux qui sont encore admis en pathologie. Pour la plupart des auteurs, la fièvre charbonneuse, le sang de rate, tuent les animaux en quelques heures. Cette erreur est due à ce qu'on n'a tenu compte que du temps de la période aiguë des symptômes ; mais lorsque ces symptômes commencent à apparaître, depuis plus d'une semaine déjà la maladie était à l'état latent, et lorsqu'on s'aperçoit de ses effets, l'animal est sur le point de succomber.

FIN



sette giorni dopo l'iniezione di liquido contenente spore. Il mio collega Peuch ha voluto comunicarmi un caso di ancor più lunga durata. Una pecorella, inoculata con il sangue di una capra morta di carbonchio, non morirà che nove giorni dopo. La durata di vita in un cavallo dopo il momento dell'inoculazione varia in limiti abbastanza estesi. Il più delle volte l'animale muore alla fine di 3 o 5 giorni, ne si vede resistere 6 o 7 giorni. Quanto agli animali che soccombono nelle greggi infette, le gravità e l'estensione delle lesioni locali, lo stato dei gangli e soprattutto la specie di stato granuloso che hanno subito le bactériadies, portano a credere che la malattia dura più a lungo ancora. Non esito ad affermare che nella maggior parte dei casi di carbonchio detto spontaneo, il tempo che separa la penetrazione delle spore dal momento della morte non deve essere minore di dieci – dodici giorni. Come si può vedere, queste ricerche conducono a dei risultati ben differenti da quelli che sono ancora ammessi in patologia. Per la maggioranza degli autori, la febbre carbonchiosa, il carbonchio, uccidono gli animali in alcune ore. Questo errore è dovuto al fatto che non si è tenuto conto che della durata del periodo acuto dei sintomi; ma quando questi sintomi cominciano a manifestarsi, dopo più di una settimana ormai la malattia era allo stato latente e quando ci si accorge dei suoi effetti, l'animale è sul punto di morire.

Bibliografia

Opere di Pasteur

Pasteur L., *Correspondance*, 4 voll., Paris, Grasset, 1940-51.

- *De l'atténuation des virus*. Quatrième Congrès International d'Hygiène et de Démographie, vol. I, Ginevra, 1882.

- *La Commission de l'Ecole vétérinaire de Turin*, Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences, Gauthier-Villars, Parigi, 1883.

- *La vaccination charbonneuse. Réponse à un mémoire de Koch* in "Revue Scientifique", 3° serie V, Paris, 1883.

- *Œuvres complètes*, 7 voll., Paris, Masson, 1922-39.

- *Registres de laboratoire*, Founds Pasteur (18692), Bibliothèque Nationale, Paris.

- *Sur la vaccination charbonneuse*, Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences, Gauthier-Villars, Parigi, 1883.

Opere su Pasteur

Bucchi M., *Gli usi di un fatto scientifico. L'esperimento di Pasteur sul carbonchio nella stampa popolare*, in "Rassegna Italiana di Sociologia", a.XXXVIII n°3, 1997.

Cadeddu A., *Dal Mito alla Storia. Biologia e medicina in Pasteur*, Franco Angeli, Milano, 1991.

- *Genesi di una teoria scientifica. Dalla generazione spontanea all'origine della vita*, University Press, CUEC, Cagliari, 1998.

Carter K.C., *The Development of Pasteur's. Concept of disease causation and the emergence of specific causes in nineteenth-century Medicine*, in "Bulletin of the History of Medicine". Ed. The Johns Hopkins University Press, Vol.65, N°4, 1991.

- *The Koch-Pasteur dispute on establishing the cause of Anthrax* in "Bulletin of the History of Medicine", 62, 1988.

Chamberland Ch., *Expériences faites dans les divers pays relativement aux vaccinations préventives*, Wien, 1887.

- *Le charbon et la vaccination charbonneuse*, Paris, 1883.

Crosland M., *Science and the Franco-Prussian War* in "Social Studies of Science", 6, 1976.

Cuny H., *Louis Pasteur*, Paris, 1963.

- *Pasteur la vita, il pensiero, i testi esemplari*, UTET, Torino, 1974.

Dagognet F., *L'immunité, histoire et méthode*, Paris, 1964.

Debré P., *Louis Pasteur*. Ed. Flammarion, Parigi, 1994.

Decourt Ph., *La rage*, in "Arch. Intern. Cl. Bernard.", 5, 1974.

- *Les vérités indésiderables*, Vol. I, Parigi, 1989.

Delaunay A., *Pasteur et la microbiologie*, Presses Universitaires de France, 1951.

- *Pasteur et la microbiologie*, Paris, 1967.

Dubos R., *Pasteur e la scienza moderna*, Ed. P.b. Einaudi, Torino, 1962.

Duclaux E., *Pasteur. Histoire d'un esprit*, Paris, 1896.

Farley J., *The social, political, and religious background to the work of Louis Pasteur* in "Annual Reviews Microbiology, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia, 1978.

Geison G., *Pasteur*, in "Dictionary of scientific Biography", vol. X, New York, 1974, pp. 350-441.

- *The private science of Louis Pasteur*, Princeton University, New Jersey, 1995.

- Kopaczewski W., *Pasteur et la bactériologie*, Rabat, 1945.
- Latour B., *I Microbi. Trattato scientifico-politico*, Editori Riuniti, giugno 1991.
- Loir A., *Á l'ombre de Pasteur*, in "Mouvement sanitaire", Paris, 1983.
- Nicol L., *L'épopée pasteurienne et la médecine vétérinaire*, Paris, 1974.
- Nicolle Ch., *Biologie de l'invention*, Paris, 1932.
- Pelis K., *Prophet for profit in French North Africa: Charles Nicolle and the Pasteur Institute of Tunis, 1903-1936*, in "Bulletin of the History of Medicine". Ed. The Johns Hopkins University Press, Vol. 71, N°4, 1997.
- Radot V., *La vita di Pasteur*, Franco Radaelli, Aurora, Milano, 1936.
- Ramon G., *Pages d'histoire de la microbiologie et de l'immunologie. Á propos de virus vaccín charbonneux de Pasteur. Chamberland et Roux*, in "Rev. Pathol. Gén., Physiol. clin.", 715, 1960.
- Roux E., *L'oeuvre agricole de Pasteur*, Alger, 1922.
- *L'oeuvre médicale de Pasteur*, Paris, 1896.
- Théodorides J., *Quelques grands précurseurs de Pasteur*, in "Hist. Sci. Méd.", 7, 1973.
- Vallery-Radot R., *Histoire d'un savant par un ignorant*, Paris, 1883.
- *La vie de Pasteur*, Paris, 1900.
- Vallery-Radot P., *Pasteur, images de sa vie*, Paris, 1947.
- Verona O., *Opere di Louis Pasteur*. Tipografia Torinese, Torino; 1972.

Opere di Robert Koch

- Koch R., Die Aetiologie der Milzbrand-Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* 2:277-310. *Gesammelte Werke* 1, 5-26, 1876.
- Die Aetiologie der Tuberculose (Based on a lecture to the Physiological Society of Berlin given on 24 March 1882). *Berliner Klinische Wochenschrift* 19:221-230. *Gesammelte Werke* 1, 428-445, 1882.
- Epidemiologie der Tuberculose. *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten* 67:1-18. *Gesammelte Werke* 1, 636-649. Speech published posthumously. Given to the Akademie der Wissenschaften zu Berlin on 7, 1910.
- *L'inoculation préventive du charbon. Réplique au discours prononcé à Genève par L. Pasteur*, Berlin, 1883.
- Üeber die Aetiologie der Tuberculose. *Verhandlungen des Congresses für Innere Medicin, Erster Congress*, J. F. Bergmann, Wiesbaden, 56-66. *Gesammelte Werke* 1, 446-453, 1882.
- Über die Pasteur'schen Milzbrandimpfungen. Letter published in *Deutsche medizinische Wochenschrift* 13:722. *Gesammelte Werke* 1, 271-273 sowie. Also published in French: De la vaccination charbonneuse. *Semaine médecin*, 1887.
- Wasserfiltration und Cholera. *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten* 14 :393-426. *Gesammelte Werke* 2/1, 183-206, 1893.
- *Zur Aetiologie des Milzbrandes* in "Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte", 1881.
- Zweiter Bericht über die Thätigkeit der Malariaexpedition. Aufenthalt in Niederländisch-Indien vom 21. September bis 12. Dezember 1899. *Deutsche medizinische Wochenschrift* 26 :88-90. *Gesammelte Werke* 2/1, 397-403, 1900.

Opere su Robert Koch

- Benison S., *Celebration and History: the centenary of Robert Koch's discovery of The Tubercle Bacillus*, in "Bulletin of the History of Medicine". Ed. The Johns Hopkins University Press , Vol. 56, N°2, 1982.
- Bochalli R., *Robert Koch - Der Schöpfer der modernen Bakteriologie*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft. Stuttgart 1954.
- Brock T. D., *Robert Koch. A Life in Medicine and Bacteriology*. Madison Science Tech Publishers, Wisconsin, 1988.
- Coleman W., *Koch's Comma Bacillus: The First Year*, in "Bulletin of The History of Medicine". Ed. The Johns Hopkins University Press, Vol.61, N°3, 1987.
- Kirchner M., *Robert Koch*. Rikola Verlag Wien, Berlin, Leipzig, München, 1924.
- Kitasato S., *The Battle against Tuberculosis. Robert Koch's Life Work*, Tokyo, 1913.
- Mollaret H. H., *Contribution à la Connaissance des relations entre Koch et Pasteur*, in "NTM. Schriftenreihe für Geschichte Der Naturwissenschaften Technik und Medizin", Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G., Leipzig 1983.
- Möllers B., *Robert Koch-Persönlichkeit und Lebenswerk 1843-1910*. Schmorl und Seefeld Nachf, Hannover, 1951.

Opere di Toussaint

- Toussaint H., *Inoculazione preventiva del carbonchio*, La clinica veterinaria, 1880, pp. 423-424.
- *Recherches expérimentales sur la maladie charbonneuse*, Paris, 1879.

Opere su Toussaint

- Chauveau, *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, XCIV, 1882, pp. 1694-1698.
- *Nature du virus-vaccin*, Comptes rendus de l'Académie des sciences, LXVI, 1868, pp. 289, 317-359.
- *Studio esperimentale delle condizioni che permettono di rendere usuale l'impiego del metodo del Signor Toussaint per attenuare il virus carbonchioso e vaccinare le specie degli animali soggetti al sangue di milza*, Giornale di medicina veterinaria e di zootecnia, Mazzini, Torino, 1882, pp. 669-674.
- Wrotnowska D., *Le vaccin anticharbonneux: Pasteur et Toussaint, d'après des documents inédits* in "Hist. Sci. Méd.", 1975-'76.
- Wrotnowska F., Robert M., Denise, *Correspondence of Pasteur e Thuillier concerning Anthrax and swine fever vaccinations*. University of Alabama Press, 1968.

Opere della Scuola veterinaria di Torino

- Bassi R., *Relazione sommaria degli esperimenti di inoculazione preventiva del carbonchio o di vaccinazione carbonchiosa secondo il metodo Pasteur fatti alla R. Scuola veterinaria di Torino e commenti relativi*, Bruno, Torino, 1882.
- Brusasco L., *Carbonchio bacteridiano e setticemia*, Giornale di medicina veterinaria e di zootecnia, Mazzini, Torino, 1884, pp. 132-144.
- *Carbonchio : più convenienti provvedimenti profilattici e di polizia sanitaria per arrestare lo sviluppo negli animali e la trasmissione all'uomo (cremazione e vaccinazione) : dissertazione*, Torino, 1882.
- *La durata della garanzia nel carbonchio od antrace, volendosi la medesima inferire dal relativo periodo di incubazione, deve estendersi ad undici giorni*, Il medico

- veterinario - giornale medico veterinario della Reale Scuola di medicina veterinaria di Torino*, Torino, 1880, pp. 281-306.
- *Più convenienti provvedimenti profilattici e di polizia sanitaria per arrestarne lo sviluppo negli animali e la trasmissione all'uomo (cremazione e vaccinazione)*, Bruno, Torino, 1882.
 - Perroncito E., *A proposito di un supposto progetto di vaccinazione carbonchiosa nell'Agro romano - scritti polemici*, Torino, 1889.
 - *Annotazione relativa al carbonchio. Sulla tenacità di vita delle spore del bacillus anthracis* - comunicazione fatta alla R. Accademia di medicina in Torino, nella seduta del 16 febbraio 1883.
 - *Breve cenno sulle conferenze tenute alla R. Scuola di Medicina Veterinaria di Torino sulle malattie carbonchiose dal professore Edoardo Perroncito*, Torino, 1887.
 - *Il carbonchio : mezzi preventivi e curativi pel professore E. Perroncito*, Torino, 1884.
 - *Le vaccinazioni carbonchiose in Italia*, *Giornale di medicina veterinaria*, Torino, 1891, pp. 55-62.
 - *Prelezione al corso libero sui parassiti dell'uomo : letta il 30 gennaio 1879 nella R. Università di Torino*, Torino, 1879.
 - *Relazione generale dei lavori compiuti dal mio Laboratorio*, *Annali dell'Accademia d'agricoltura di Torino*, Torino, anni 1882, pp. 160-166.
 - *Relazione sulle prime esperienze di vaccinazione carbonchiosa fatte in Italia colle relative prove definitive: pel prof. Edoardo Perroncito*, Torino, 1883.
 - *Sull'azione dei disinfettanti ed altre annotazioni sul carbonchio*, Torino, 1883.
 - *Trattato teorico-pratico delle malattie più comuni degli animali domestici dal punto di vista agricolo, commerciale ed igienico. Metodi di cura per il dott. E. Perroncito*, Torino, 1905.
- Perroncito, Rivolta, Gotti, *Relazione della Commissione per lo studio della vaccinazione carbonchiosa*, *Giornale di medicina veterinaria pratica*, Torino, 1883, pp. 97-12, *Giornale di medicina veterinaria pratica*, Torino, 1883, pp. 97-123.
- Vallada D., *Cenno storico ed analitico delle varie inoculazioni proposte per preservare il domestico bestiame dagli attacchi dei naturali morbi epizootici e contagiosi*, Torino, 1882.
- *Elementi di giurisprudenza medico-veterinaria*, Torino, 1881.

Opere sulla Scuola veterinaria di Torino

- AA.VV., *Annali dell'Accademia d'agricoltura di Torino*, Torino, anni 1880-1885.
- AA.VV., *Giornale di Medicina veterinaria e zootecnia*, G. B. Mazzini, Torino, anni 1881-1890.
- AA.VV., *Il medico veterinario - giornale medico veterinario della Reale Scuola di medicina veterinaria di Torino*, 1880-1883.
- AA.VV., *Il moderno zoiatro*, Mazzini, Milano, 1890-'91.
- AA.VV., *La clinica veterinaria*, Milano, 1880-1885.
- AA.VV., *Manuale di semiotica medica veterinaria ad uso del veterinario pratico e dello studente*, Torino, 1907.
- Bertolini, Cazzella, *Trattato italiano di igiene - ispezione delle carni*, Torino, 1928.
- Cagny, Gobert, *Dizionario veterinario*, Torino, 1907.

Opere a carattere generale

- Bulloch W., *The History of bacteriology*, London, 1960.
- Canguilhem G., *Idéologie et rationalité. L'effet de la bactériologie dans la fin des théories médicales au XIXème siècle*, Paris, 1977.
- Cohn B., *La Rivoluzione nella Scienza*, Longanesi & C., 1988.
- Cosmancini G., *Arte Lunga. Storia della Medicina dall'antichità ad oggi*. Laterza, Milano, 1997.
- *Storia della Medicina e della Sanità nell'Italia Contemporanea*, Laterza, Milano, 1994.
- Coze, Feltz, *Recherches expérimentales sur la présence des infusoires et l'état du sang dans les maladies infectieuses* Strasburgo, in-8°, 1866-1869.
- Daumas M., *Storia della Scienza IV. Le scienze biologiche*, Universale Laterza, Milano, 1976.
- Davaine C.J., *Recherches sur les infusoires du sang et de la malarie connue sous le nom de sang de rate*, C.R. Acad. Sc., Parigi, 1863.
- , *Recherches sur quelques questions relatives à la septicémie*, Bulletin de l'Académie de médecine, 17 settembre 1872, 2^a serie, I, pp. 907-920.
- Davis B., *Microbiologia*, Zanichelli, Roma, 1994.
- Grmek M. D., *Per una demitizzazione della presentazione storica delle scoperte scientifiche*, Roma, 1984.
- Grmek, Somenzi, *La scoperta scientifica*, Roma, 1993.
- Gutmann B.R., *The trouble Bovine Tuberculosis*, in "Bulletin of the History of Medicine". Ed. The Johns Hopkins University Press, Vol. 59, N°2, 1985.
- Howard M., *Cholera, Quarantines, and Immigration. Restriction: The View from Johns. Hopkins, 1892*, in "Bulletin of the History of Medicine," Vol.67, N°4, 1993.
- Ludovici J., *Il Mondo al microscopi*, Ed. Universale Cappelli, Torino, 1962.
- Meloni G.A., *Microbiologia*, Ed. VIII, Cortina Padova, 1983.
- Metchnikoff E., *Trois fondateurs de la médecine moderne. Pasteur - Lister - Koch*, Paris, 1933.
- Penso G., *La conquista del mondo invisibile: parassiti e microbi attraverso i secoli*, Milano, 1981.
- Sistrom W.R., *La vita dei microbi*, Ed. Zanichelli, Roma, 1965.
- Weindling P., *Medicine and Modernization: the Social History of German Health and Medicine*, in "History of Science". Ed. Science History Publications, Vol.24, N°65, 1986.

Ringraziamenti

Un grazie al supervisore di dottorato prof. Antonio Cadeddu, per avermi fornito gli elementi per intraprendere la ricerca. Per la stesura del lavoro ho avuto inoltre il sostegno e l'incoraggiamento di diverse persone; tra queste un ringraziamento particolarmente sentito alla mia numerosa famiglia e la mia gratitudine ai pochi e fedeli amici, Betto, Gisella, Luca e Michela, che mi hanno fornito un reale contributo per la realizzazione della tesi.