

VIII.

Einige Sätze über die Ursachen der Wechselfieber und die Natur der Malaria.

Von

E. Klebs und C. Tommasi-Crudeli.¹⁾

1. Unsere bisher gewonnenen Kenntnisse von der Natur der Malaria und der durch sie veranlassten Krankheiten weisen darauf hin, dass a) die eigentliche Ursache der durch dieselbe verursachten Krankheitsprocesse im Boden zu suchen ist, in welchem sich dieselbe unter geeigneten Bedingungen der Feuchtigkeit und Wärme zu grösserer Intensität entwickelt, ferner

b) dass diese giftige Substanz bei dem Eintrocknen der Bodenoberfläche unter dem Einfluss der aufsteigenden Luftströme sich ein wenig über dieselbe erhebt, durch stärkere Luftströmungen auch weiter fortgeführt oder in grössere Höhe gehoben werden kann,

c) dass diese Substanz, die Ursache der Malaria, nicht in jedem Boden von gleicher Zusammensetzung und gleicher Feuchtigkeit sich entwickelt; ein Umstand, welcher wiederholt zu der Annahme geführt hat, dass dieselbe die Natur eines specifischen Organismus besitzt, welcher zu seiner Entwicklung nicht nur der äusseren, dafür günstigen Verhältnisse, sondern in erster Linie eines „Keimes“ bedarf, aus welchem er sich entwickelt.

2. Indem die angeführten Verhältnisse der Malariaentwicklung sowohl durch die Bildung gasförmiger Producte im Boden (von höherem specifischem Gewicht als die atmosphärische Luft), wie auch durch Organismen, welche nach neueren Erfahrungen die Ursache zahlreicher infectiöser Krankheiten darstellen, bewirkt werden kann, war es eine Aufgabe von hoher wissenschaftlicher und praktischer Bedeutung, zu entscheiden, welche dieser beiden Möglichkeiten der Wirklichkeit entspricht.

Nach der deutschen Naturforscherversammlung in Cassel (September 1878) hatten wir den Vorsatz gefasst, die Bearbeitung dieser

1) Der R. Accademia dei Lincei vorgelegt am 1. Juni 1879.

Frage während des Frühjahrs des laufenden Jahres im Agro romano zu unternehmen und zu gleicher Zeit den Gang unserer Untersuchungen festgestellt. Der Eine von uns (Tommasi-Crudeli) hat bereits der Accademia dei Lincei Bericht erstattet über vorbereitende Arbeiten, welche die Art und Weise der Malariaverbreitung von einzelnen Herden aus in denjenigen Theilen des Agro romano festzustellen suchten, in denen keine grösseren und leicht wahrnehmbaren Ansammlungen stagnirenden Wassers vorhanden waren.¹⁾ Am 9. April begannen wir die erste Reihe der gemeinschaftlichen Arbeiten, welche in einer verhältnissmässig kurzen Zeit zu Ende geführt werden konnten vermöge der kräftigen, Unterstützung, welche dieselben von vielen Seiten erfuhren; namentlich sei in dieser Beziehung den Herren Caetani Principe di Teano, Alessandro und Tito Piacentini und Cannizzaro unser aufrichtigster Dank ausgesprochen.

3. Zur Entscheidung dieser Frage wandten wir die von Einem von uns (Klebs) schon in anderen ähnlichen Fragen bewährte Methode an; es wurde zunächst die Wirksamkeit verschiedener Bodensorten, des Wassers und der Luft aus Malariagegenden geprüft, sodann eine Trennung der flüssigen und festen Theile dieser Substanzen vorgenommen, um die Wirksamkeit jedes derselben gesondert untersuchen zu können. Dieses letztere konnte in dreifacher Weise geschehen: 1) von der Voraussetzung ausgehend, dass Organismen die Keime der Krankheit darstellen, erschien es möglich, aus einer an dem Infectionsstoff reichen Substanz diese zur ausschliesslichen oder überwiegenden Entwicklung zu bringen, indem man die Substanz denjenigen Bedingungen aussetzte, welche in der Natur zur Entwicklung der Krankheit erfahrungsgemäss die günstigsten sind (30—40 ° C. Lufttemperatur, reichliche Feuchtigkeit der tieferen Bodenschichte, schnelle Verdunstung an der Oberfläche); 2) aus den so vorbereiteten Substanzen wurden kleinere Partikeln in verschiedene Culturflüssigkeiten übertragen und weiterhin versucht, ob in mehrfach aufeinanderfolgenden „fractionirten“ Culturen dieselbe Wirksamkeit wie in den zuerst angewandten Substanzen sich wiederum constatiren lässt. Ist dieses der Fall, so ist klar, dass nur die entwicklungsfähigen Theile der ursprünglichen Substanz als die Ursachen des Krankheitsprocesses betrachtet werden können, indem von den nichtentwicklungsfähigen Substanzen keine oder nur äusserst geringe Spuren in den späteren Culturen übrig geblieben sein können; 3) endlich wurde die

1) Tommasi-Crudeli, Della distribuzione delle acque nel sottosuolo dell'agro romano, e della sua influenza nella produzione della malaria. Reale accademia dei Lincei. Seduta del 6 Aprile 1879.

mechanische Trennung der Flüssigkeit von den festen mikroskopischen Partikeln in den Culturen wie in den Originalflüssigkeiten mittelst Filtration durch Gyps- und andere Filter vorgenommen und die Wirksamkeit des Filtrats und des Rückstandes gesondert untersucht, eine Methode, die zuerst von Einem von uns (Klebs¹⁾), dann von Pasteur²⁾ angewandt wurde.

Zur Prüfung der Wirksamkeit dieser verschiedenen Substanzen wurden dieselben Kaninchen unter die Haut injicirt und sowohl die Form der durch zweistündliche Messungen aufgenommenen Temperaturcurven, wie der Leichenbefund verwerthet, indem die regelmässigen Intermissionen der Malariafieber, wie die Milzschwellung und das Fehlen anderweitiger Veränderungen im Körper als maassgebend betrachtet wurden.

4. Die Resultate, welche sich aus diesen Untersuchungen ergaben, lassen sich in Kürze in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Das Malariagift befindet sich in grosser Verbreitung und Menge in dem Boden der Malariagegenden schon zu einer Jahreszeit, in welcher Erkrankungen von Menschen noch nicht stattgefunden haben.
2. Es kann auch zu diesen Zeiten an besonders günstig gelegenen Orten aus den der Bodenoberfläche zunächst gelegenen Luftschichten gewonnen werden; zu diesem Zwecke wurden mittelst eines Ventilators je 300 Lt. Luft mit grosser Kraft und Geschwindigkeit, bei geringem Querschnitt des Luftstromes gegen eine mit Leimlösung bedeckte Glasplatte getrieben, auf welche sich die festen in der Luft befindlichen Partikeln fixiren.
3. Das in Malariagegenden stagnirende Wasser scheint das Krankheitsgift nicht zu enthalten, obwohl dasselbe, wie z. B. dasjenige des Sees von Caprolace ausserordentlich reich an niederen Organismen sein kann, und sprechen unsere Versuche entschieden dafür, dass eine grosse Menge Wassers überhaupt die Entwicklung des Malariagiftes verhindert und die etwa vorhandenen Krankheitskeime unwirksam macht.
4. Die Thierversuche ergaben uns folgende Resultate:
 - a) Durch die Infection mit den oben angeführten, theils direct aus dem Boden gewonnenen, theils durch Culturen und Filtration vorbereiteten Flüssigkeiten wurden bei unseren Versuchsthieren Fieber erzeugt von regelmässig typischem Verlauf, mit Intermissionen, welche

1) E. Klebs, Arbeiten aus dem Berner pathologischen Institut 1871 — 72. Würzburg 1873. S. 130.

2) Comptes r. de l'Acad. des sciences. 19. Avril 1878. tome LXXXVI. p. 1037.

bis zu 60 Stunden dauerten, und mit Temperatursteigerungen im Anfälle bis zu $41,8^{\circ}$ C. (gemessen im Rectum, dessen Normaltemperatur innerhalb weniger Zehntelgrade um $39,5^{\circ}$ C. oscillirte).

b) Filtrate solcher Flüssigkeiten ergaben nur geringe Temperatursteigerungen, auch bei Anwendung einer 5fach grösseren Menge, entweder von intermittirendem Charakter oder auch nur eine einmalige, unmittelbar nach der Injection eintretende Ephemera. Ferner zeigte sich, dass dieses Resultat in dem vorliegenden Falle schon bei Filtration durch ein doppeltes Papierfilter erlangt werden könne, die wirksamen körperlichen Bestandtheile der das Malariagift enthaltenden Flüssigkeiten demnach leichter trennbar sein müssen, als dieses bei vielen anderen Infectionsprocessen der Fall ist (Milzbrand, Septicämie).

c) Einzelne der von uns beobachteten Thiere, welche nicht mit den Malariaflüssigkeiten inficirt waren, dagegen zufällig Verletzungen erlitten hatten und in Folge dessen septisch inficirt waren, zeigten durchaus abweichende Fiebercurven, die entweder gleichmässig durch längere Zeit fortschreitende Ansteigungen oder eine continuirliche Steigerung der Körperwärme oder einen ganz unregelmässigen Verlauf des Fiebers darboten.

d) Unsere mit Malariaflüssigkeiten inficirten Thiere zeigten ohne Ausnahme sehr bedeutende Milzschwellungen; während normale, zu diesem Zweck getödtete Thiere Milzen von 4 Ctm. Länge, 0,8 Ctm. Breite und 0,3 Ctm. Dicke besaßen, betrugen dieselben Dimensionen bei einem Thiere, welches nach zweimaliger Injection innerhalb 36 Stunden zu Grunde ging, 8,3, 2,3 und 0,9 Ctm., die Masse des Organs hatte demnach um das 9—10fache zugenommen. Auch die kleinsten Milzen der inficirten Thiere zeigten eine Länge von 6 Ctm., waren also in dieser Dimension um die Hälfte der normalen vergrößert.

e) In vielen dieser Milzen, namentlich in den schwereren Fällen, wurde schwarzes Pigment in reichlicher Menge angetroffen, ähnlich wie bei den melanämischen Zuständen der an Malaria erkrankten Menschen.

f) Die Organismen, welche wir auf Grund unserer Untersuchungen als die wahre Ursache der Malariafieber ansehen müssen, indem sie sich sowohl in den wirksamen Substanzen, die aus dem Boden und der Luft gewonnen wurden, wie in unseren Culturen, wie in dem Körper der erkrankten Thiere vorfanden, gehören dem Genus *Bacillus* an. Im Boden von Malariaegegenden sind sie in Gestalt zahlreicher, beweglicher, glänzender Sporen von länglich-ovaler Ge-

stalt mit einem grösseren Durchmesser von 0,95 Mikromillimeter vorhanden; dieselben wachsen sowohl im Thierkörper, wie in Culturen zu langen Fäden heran, welche anfänglich homogen sind, später sich theilen und in dem Inneren der Glieder wieder neu entwickeln. Die erste Bildung dieser Sporen geschieht wandständig, schliesslich aber wird das ganze Innere der Glieder von solchen Körperchen erfüllt. Wegen dieser besonderen morphologischen Verhältnisse glauben wir dieselben als eine besondere Art der Bacillen anzusprechen zu müssen, welche wir, da wir sie auch im Körper der inficirten Thiere (Milz, Knochenmark, Lymphe, Blut) sich entwickeln sahen, als *Bacillus Malariae* zu bezeichnen vorschlagen.

g) Von den biologischen Verhältnissen dieser Pflanze wollen wir hier noch hervorheben, dass dieselbe bei Ausschluss freien Luftsaauerstoffes sich nicht weiter entwickelt, daher zu der Klasse der Aerobii (Pasteur) gehört, ferner, dass sie sich nicht in Wasser, wohl aber in Flüssigkeiten entwickelt, welche stickstoffreich sind, wie Leimlösungen, Eiweiss, Harn und Körperflüssigkeiten. Die reichlichste Entwicklung derselben im Körper der inficirten Thiere findet in der Milz und im Knochenmark statt, welche in einigen unserer Fälle lange homogene Fäden von 0,06—0,084 Mm. Länge, bei einer Dicke von 0,6 Mikromillimeter enthielten.

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI.¹⁾

Sulla natura dell' agente specifico che produce le febbri da malaria.

Nota del prof. KLEBS e del Socio TOMMASI-CRUDELI

letta nella seduta del 1 giugno 1879.

„1.° Tutte le conoscenze che abbiamo sulle malattie cagionate dalla malaria provano:

a) Che in quelle regioni nelle quali, quando il terreno si trova in opportune condizioni di umidità e di calore, questi processi morbosi si manifestano in grandi proporzioni, le vere cause di essi debbono essere ricercate nel suolo.

b) Che quando la superficie del suolo, nel quale la sostanza velenifica si sviluppò, si dissecca, e la evaporazione degli strati sottostanti diviene molto attiva, quella sostanza può inalzarsi nella atmosfera ad altezze diverse, sotto l'influenza di correnti ascendenti di aria.

c) Che questa sostanza, causa della malaria, non si sviluppa

1) Estratto dal Vol. III.^o — Serie 3.^a — Transunti.

egualmente in terreni di eguale composizione ed egualmente umidi; ciò che ha indotto ripetutamente a credere che essa sia costituita da un organismo specifico, il quale, per svilupparsi, richieda non solo alcune favorevoli condizioni esteriori, ma ancora la presenza di un germe atto a dargli nascimento.

2.^o Le condizioni nelle quali la malaria si produce nel suolo, non bastano però ad eliminare la ipotesi che essa si debba alla formazione di prodotti gassosi del terreno, piuttostochè ad organismi simili a quelli che, nell'ultimo decennio, sono stati riconosciuti quali cause di altre malattie di infezione. Perciò è un assunto di grande importanza scientifica e pratica il decidere quale di queste due ipotesi risponda alla verità. Dopo la riunione dei Naturalisti avvenuta in Cassel nel settembre 1878, noi ci proponemmo di intraprendere questo studio durante la primavera di questo anno nell'agro romano, e stabilimmo fin d'allora il metodo che avremmo adoperato nelle nostre ricerche. Uno di noi (TOMMASI-CRUDELI) ha già reso conto all'Accademia di un suo lavoro preparatorio, diretto a stabilire il modo col quale i focolai di infezione malarica si producono in quelle parti dell'Agro, nelle quali non si trovano ristagni d'acqua cospicui e molto appariscenti.¹⁾ Il 9 aprile incominciammo la prima serie delle ricerche che ci eravamo proposto di fare insieme, la quale ha potuto esser condotta a termine in un tempo relativamente breve, mediante gli aiuti prestatoci da D. Onorato Caetani principe di Teano, dai signori Alessandro e Tito Piacentini, e dal senatore Cannizzaro, ai quali dobbiamo i nostri più cordiali ringraziamenti.

3.^o Il metodo da noi adoperato in queste ricerche è quello stesso che uno di noi (KLEBS) ha impiegato per risolvere altre quistioni patologiche della stessa natura. Dapprima fu saggiata l'azione sull'organismo vivente di varie sorta di terreni, dell'aria, e dell'acqua dei luoghi di malaria. Dopo di ciò venne fatta la separazione delle parti solide dalle parti liquide delle sostanze riconosciute capaci di determinare la infezione malarica, onde saggiare partitamente l'azione morbifica delle une e delle altre. Queste successive operazioni vennero eseguite in tre modi:

a) Nella ipotesi che le malattie malariche siano generate da organismi parassitari, si ritenne possibile di farli sviluppare, o esclusivamente, o preponderantemente, ponendo le sostanze contenenti il veleno malarico in quelle stesse condizioni che l'esperienza ha dimo-

1) Vedi: Seduta del 6 aprile 1879. Memoria del Socio TOMMASI-CRUDELI intitolata: *Della distribuzione delle acque nel sottosuolo dell'agro romano, e della sua influenza nella produzione della malaria.*

strato favorevoli alla sua produzione (Le terre p. es., vennero lungamente tenute esposte all'aria, ad una temperatura da 30°—40° C. durante il giorno, assicurando una rapida evaporazione degli strati superficiali, e mantenendo molto umidi gli strati profondi).

b) Piccolissime quantità delle materie infettive così preparate, ed anche delle materie che non avevano subita alcuna preparazione, vennero poste in vari liquidi di cultura, e poi si saggiò l'azione morbigena di queste prime culture. Si ricercò poi se le culture ottenute trapiantando successivamente, in nuovi liquidi di cultura, piccolissime quantità dei prodotti delle prime culture, esercitavano la medesima azione morbigena riscontrata in queste. Riuscendo a ciò, si veniva a provare che soltanto le parti capaci di sviluppo organico, contenute nella sostanza infettante primitiva, potevano essere considerate quali cause dei processi morbosi che si producevano; poichè nelle ultime culture della serie non si trovava più traccia, o tutt'al più una minimissima, delle sostanze incapaci di sviluppo organico contenute nella materia infettante primitiva.

c) Finalmente si procedè alla separazione meccanica delle parti fluide dalle parti solide microscopiche, contenute nei liquidi naturali e nei liquidi delle culture, dopo aver riconosciuto che questi liquidi erano capaci di spiegare una azione morbigena specifica. La separazione si ottenne mediante la filtrazione a traverso filtri di gesso ed altri filtri, onde saggiar partitamente l'azione dei liquidi filtrati e dei residui rimasti sul filtro. Tutto ciò venne eseguito a seconda del metodo adoperato per la prima volta da uno di noi (KLEBS ¹⁾) e più tardi da PASTEUR. ²⁾

Per saggiare l'azione morbigena di tutte queste varie sostanze, esse vennero iniettate nel tessuto sottocutaneo dei conigli; quindi vennero tracciate le curve della temperatura di essi per mezzo di misure prese ogni due ore; e finalmente vennero raccolti i dati forniti dalle autopsie. Si ritennero quali elementi di prova: le intermittenze regolari della temperatura, le tumefazioni della milza, e la mancanza di alterazioni patologiche proprie di altri stati morbosi.

4.º I risultati delle nostre osservazioni si possono riassumere nei seguenti capi:

1) Il veleno della malaria si trova in gran quantità ed estensione nel terreno delle regioni malariche, anche in una stagione nella quale generalmente non si produce nell'uomo la febbre da malaria.

1) V. Arbeiten aus dem Berner pathologischen Institut 1871—1872. Herausgegeben von E. Klebs. Würzburg 1873. S. 130.

2) V. Comptes rendus de l'Académie des sciences. 19. avril 1878. tome LXXXVI. p. 1037.

2) Questo stesso veleno può essere raccolto in tale stagione, negli strati d'aria che si trovano ad immediato contatto colla superficie del suolo, nei luoghi favorevoli alla sua produzione. Per riuscire a ciò adoperammo un potente ventilatore il quale, con grande forza e velocità, spingeva 300 litri d'aria aspirata da questi strati e ridotta ad una colonna di piccolo diametro, contro una placca di vetro ricoperta da una soluzione di gelatina, e contenuta in una piccola scatola. Da questa scatola l'aria usciva, dopo aver depositato sulla gelatina della placca di vetro tutte le particelle solide che teneva in sospensione.

3) L'acqua stagnante nelle regioni di malaria non sembra contenere in questa stagione il veleno morbifico, sebbene essa come p. es. quella del lago di Caprolace, possa essere ricchissima di organismi inferiori. D'altro lato le nostre ricerche dimostrano che una grande quantità d'acqua impedisce lo sviluppo del veleno malarico, rendendo inattivi ed inefficaci i germi di esso.

4) Le ricerche sugli animali ci diedero i risultati seguenti:

a) Colla iniezione dei liquidi ottenuti direttamente dal terreno, delle culture artificiali, e dei residui di filtrazione dei liquidi delle culture stesse, si generò sempre negli animali da noi sottoposti ad esperimento una febbre, con andamento regolarmente tipico, con intermissioni le quali, in alcuni casi, durarono fino a 60 ore, e con aumenti di temperatura durante l'accesso febbrile che giunsero fino a 41°, 8 C. (La temperatura venne sempre misurata nel retto, dove la temperatura normale oscilla nel coniglio, entro limiti di pochi decimi di grado, intorno a 39°, 5 C.)

b) I liquidi filtrati invece, ancorchè adoperati in quantità cinque volte maggiore delle sostanze anzidette, produssero soltanto piccoli aumenti di temperatura di carattere intermittente, ovvero una sola febbre effimera immediatamente dopo la iniezione. Si verificò inoltre, che questo risultato negativo si poteva ottenere anche mediante la semplice filtrazione a traverso carta doppia; cosicchè sembra che le particelle attive dei liquidi contenenti il veleno malarico, siano trattenute sul filtro più facilmente di quelle che costituiscono il principio attivo di altre infezioni (Carbunchio, setticoemia).

c) Alcuni dei nostri animali, nei quali non era stato introdotto il veleno malarico, ma che invece erano in preda ad una infezione settica in seguito a lesioni accidentali, mostrarono curve febbrili affatto diverse da quelle degli animali infetti di malaria. In queste curve si vedevano: o elevazioni graduali della temperatura che du-

ravano un tempo assai lungo, od un aumento continuo del calore del corpo, ovvero delle alternative interamente irregolari.

d) In tutti gli animali da noi infettati con liquidi malarici si trovò, senza eccezione, un notevole rigonfiamento della milza. Mentre i conigli sani, uccisi per determinare le dimensioni normali della milza, mostravano milze lunghe 4 centimetri, larghe 0,8 centimetri e grosse 0,3 centimetri; le stesse dimensioni, in un animale che in seguito ad una iniezione ripetuta due volte morì in 36 ore, erano le seguenti:

Lunghezza	centimetri	8,3
Larghezza	id.	2,3
Groschezza	id.	0,9

Perciò il volume dell'organo era cresciuto da 9 a 10 volte. Anche le più piccole milze degli animali infettati avevano una lunghezza di 6 centimetri; cosicchè, in questa sola dimensione, erano aumentate della metà della normale.

e) In molte di queste milze, specialmente nei casi più gravi, fu trovato pigmento nero in gran quantità, come negli stati melanemici dell'uomo che si producono in seguito alle febbri da malaria.

f) Gli organismi i quali, secondo le nostre osservazioni, debbono essere considerati come la vera causa della malaria, (poichè si trovano nei liquidi infettanti ottenuti dal terreno, dall'aria, e dalle nostre culture — come nel corpo degli animali infetti), appartengono al genere *Bacillus*. Nel suolo delle regioni malariche, si trovano in forma di numerose spore semoventi, che refrangono fortemente la luce, hanno figura ovale allungata, ed un diametro massimo di 0,95 micromillimetri. Essi si sviluppano, entro il corpo e negli apparecchi di cultura, in lunghi filamenti, che dapprima sono omogenei: più tardi questi filamenti subiscono divisioni trasverse che li rendono articolati, e nell'interno dei loro articoli si sviluppano nuove spore. La prima formazione di queste spore è parietale; in ultimo però tutto l'interno degli articoli si riempie di tali corpicciuoli. Queste proprietà morfologiche ci sembrano rispondere ad una particolare specie di Bacilli, che noi proponiamo di chiamare *Bacillus malariae*, poichè l'abbiamo visto svilupparsi anche entro il corpo degli animali infetti da malaria.

g) Sulle proprietà biologiche di questa pianta occorre dire inoltre, che essa richiede pel suo sviluppo la presenza dell'ossigeno libero, ed appartiene perciò alla classe degli *Aerobii* (PASTEUR). Essa non si sviluppa nell'acqua, bensì nei liquidi ricchi di sostanze azotate; come le soluzioni di gelatina e di albumina, l'orina, ed i liquidi dell'organismo. Lo sviluppo più abbondante di essa nel corpo degli animali infettati, ha luogo nella milza e nel midollo delle ossa, che in alcuni dei nostri casi contenevano filamenti lunghi ed omogenei, i quali misuravano 0,06—0,084 millimetri in lunghezza, e 0,0006 millimetri in diametro. Questa circostanza è notevole; poichè è appunto in tali organi che si verificano le alterazioni anatomiche più caratteristiche, in seguito alle gravi febbri da malaria nell'uomo“.