

3. RICERCHE SULLA FREQUENZA DELL'INFEZIONE DA LEPTOSPIRE NEI CANI DI ROMA.

In questi ultimi anni si nota in tutti i paesi una fioritura di studi e di ricerche sulle infezioni da leptospire, dovuta principalmente alla constatazione che tali infezioni son ben più frequenti di quanto finora si credesse e sono sostenute da specie o per lo meno da tipi di spirochete tra loro diverse per caratteri serologici, biologici, epidemiologici.

S'è visto così che, contrariamente a quanto si credeva fino a poco tempo fa, non sono solo i ratti ad essere portatori del virus, bensì anche altri animali, fra i quali, per la loro dimestichezza con l'uomo, e per la relativa frequenza in essi dell'infezione, ci interessano in modo particolare il cane ed il gatto.

L'importanza del gatto come diffusore di leptospire patogene per l'uomo, è però ancora controversa perchè contro i risultati di Mertens, di Esseveld, e di Collier ⁽¹⁾, che trovano a Giava un'alta percentuale di animali infetti, stanno i risultati negativi o quasi delle ricerche di Schmidt ⁽²⁾ e di Wirth ⁽³⁾, eseguite in Europa.

L'importanza del cane è invece sicuramente accertata, e sono ormai noti numerosi casi in cui la trasmissione della malattia dal cane all'uomo è avvenuta ed è stata dimostrata [Krumbein e Frieling ⁽⁴⁾, Lawrence, Montagu e Okell ⁽⁵⁾, Wirth ⁽³⁾, Schueffner ⁽⁶⁾ ⁽⁷⁾, Kotter e Schultsz ⁽⁸⁾, Petersen e Jacobsen ⁽⁹⁾, Roos ⁽¹⁰⁾, Walch-Sorgdrager ⁽⁷⁾, Meyer, Eddie, Anderson e Stewart ⁽¹¹⁾, Welcker ⁽¹²⁾, Tetzner ⁽¹³⁾, ecc.].

Il primo reperto di leptospire nel cane risale al 1923, ed è dovuto a Lukeš ⁽¹⁴⁾, ma soltanto ricerche più recenti, fra cui ricordiamo quelle di Klarenbeek ⁽¹⁵⁾ ⁽¹⁶⁾ ⁽¹⁷⁾, Schlossberger e Pohlmann ⁽¹⁸⁾, Huguenin e Bourgeois ⁽¹⁹⁾ ⁽²⁰⁾ ⁽²¹⁾, Walch-Sorgdrager e Schueffner ⁽²²⁾ ci hanno illuminato sulla frequenza dell'infezione, sul suo quadro clinico e su quello anatomo-patologico.

Particolarmente interessanti sono le ricerche di Schueffner e collaboratori ⁽⁶⁾ ⁽²²⁾ ⁽²³⁾, le quali hanno portato a distinguere nella leptospirosi del cane due diversi tipi di malattia, sostenuti da due diversi agenti patogeni.

Uno di questi sarebbe la comune *L. i-h.* che nel cane dà ittero ed emorragie; in complesso un quadro corrispondente a quello classico del morbo di Weil. L'altro costituirebbe invece una specie a sè stante: *L. canicola*, e darebbe nei cani una malattia che era nota da molto tempo sotto il nome di tifo canino, malattia di Stoccarda o gastro-enterite emorragica, la quale uccide per lo più l'animale con il quadro dell'uremia.

L'individualità specifica di *L. canicola* è affermata da Schüffner oltre che in base alle particolarità del quadro clinico che essa provoca, anche per il suo comportamento serologico e la sua assenza nei ratti, frequenti portatori invece di *L. i-h.* Tale individualità non è però da tutti accettata e tra gli AA. più autorevoli ricordiamo Schlossberger ⁽²⁴⁾ ⁽²⁵⁾ che ritiene *L. canicola* una semplice varietà di *L. i-h.* Ad ogni modo, pur senza volerci addentrare nella discussione se *L. canicola* debba essere considerata una specie a sè stante, o una semplice varietà, non possiamo non far rilevare che essa è serologicamente ed epidemiologicamente differenziabile da *L. i-h.*

Quale sia la gravità dell'infezione da leptospire nei cani, è un po' difficile a dirsi. Probabilmente essa varia da epidemia ad epidemia, e accanto ai casi gravi e facilmente riconoscibili, vi sono certamente molti casi lievi che passano inavvertiti e che sono i più pericolosi per l'eventuale diffusione della malattia.

Tra le epidemie a decorso più grave ricorderemo quella descritta da Jungherr ⁽²⁶⁾ nel Connecticut, dove su 42 cani ammalati si ebbero 41 morti e quella segnalata da Aellig ⁽²⁷⁾ a Berna, che diede il 90 % di mortalità. La statistica invece di Schueffner del 1936 dà il 20 % di mortalità per i cani infetti da *L. i-h.*, il 59 % per quelli da *L. canicola*; e quella più recente di Klarenbeek ⁽¹⁶⁾ (1938) dà 29 morti su 57 infetti da *L. i-h.* e 39 morti su 94 infetti da *L. canicola*.

Parecchi AA. hanno ricercato la frequenza dell'infezione nei cani, ma i loro risultati non sono sempre comparabili, perchè le ricerche sono

state spesso eseguite con criteri diversi (cultura diretta, inoculazione in cavia, ricerca al paraboloide, in sezioni, ricerca di agglutinine, ecc.).

Tra questi bisogna distinguere coloro, e sono i più, che hanno compiuto ricerche sui cani ammalati, per lo più per determinare la percentuale rispettiva delle infezioni date da *L. i-h.* e da *L. canicola*, e coloro invece che hanno ricercato la spirocheta o le alterazioni da essa indotte in cani apparentemente sani.

Tra i primi ricorderemo, fra gli altri, Meyer, Eddie, Anderson e Stewart ⁽¹¹⁾ (1938) che a S. Francisco osservarono 33 cani che presentavano il quadro del morbo di Weil, contro 36 che presentavano quello del tifo canino. Dai cani gli AA. riuscirono ad isolare 6 ceppi di *Leptospire*, che Schüffner ha identificato per *L. canicola*.

Nella clinica degli animali domestici di Utrecht, Klarenbeek e Winsser ⁽¹⁷⁾ osservano nel periodo 1936-37, 39 casi di leptospirosi nel cane. L'esame serologico ha dimostrato che in 10 casi si trattava di infezione da *L. i-h.*, in 25 da *L. canicola*.

Van der Hoeden ⁽²⁸⁾ ⁽²⁹⁾ invece, su 44 cani ammalati, trova nell'urina una reazione positiva per *L. i-h.* in 28 casi, per *L. canicola* in 16 (1936).

L'abituale maggior frequenza dell'infezione da *L. canicola* nei Paesi Bassi trova un'altra conferma nello studio di Esseveld ⁽³⁰⁾ (1937) che su 17 ceppi canini isolati, ne trova 6 appartenenti alla classica *L. i-h.*, e 11 a quella *canicola*.

Accenniamo ancora alle statistiche pubblicate l'anno scorso da Klarenbeek ⁽¹⁶⁾, secondo le quali su 163 cani infetti esaminati da quest'A., in 57 casi la siero-reazione fece diagnosticare un'infezione da *L. i-h.*, in 94 da *L. canicola*. In 12 casi il tasso delle agglutinine raggiungeva pressochè lo stesso valore per ambedue i tipi di leptospire.

Nel 20 % dei casi d'infezione da *L. i-h.*, si trattava di animali di meno che un anno, mentre solo l'8 % dei casi da *L. canicola* aveva tale età.

Tra gli AA. che hanno studiato la frequenza dell'infezione da leptospire nei cani apparentemente indenni, citeremo Korthof ⁽³¹⁾ (1928) che trova agglutinine per leptospire nel 13 % dei cani esaminati (egli esamina però anche cani ammalati), e Kouvenaar e Wolff ⁽³²⁾ (1930) che

a Medan (Sumatra) trovano spirochete nei reni di 6 cani sani, su 106 esaminati (5,7 %).

Lesioni anatomo-patologiche riferibili a leptospirosi, sono trovate da Huguenin e Bourgeois (²⁰) nel 2 % dei cani sezionati a Berna nel 1933, nel 5,4 % di quelli sezionati nel 1934. In complesso, nel periodo 1933-36, furono sezionati 46 cani che presentavano tali lesioni. Di questi, 10 mostravano il quadro del morbo di Weil e 11 quello del tifo canino. In 25 casi le lesioni erano invece di tipo cronico e di vecchia data.

Uhlenhuth e Zimmermann (³³) (1936) hanno eseguito ricerche serologiche su 90 sieri di cane, in maggior parte provenienti da Friburgo, in parte anche da Giessen, Berlino ed Eystrup. I risultati positivi nei vari gruppi vanno dal 12 al 22 %.

Gli AA. notano che i cani giovani danno di rado risultato positivo, mentre questo è più frequente con l'aumentare dell'età, e raggiunge il suo massimo tra i 3 ed i 6 anni. Dopo i 6 anni la positività ritorna a diminuire e tale diminuzione è dagli AA. spiegata con l'ipotesi che i cani vecchi che s'erano infettati in gioventù, vengono poi più facilmente a morte in seguito alle lesioni croniche in essi determinate dalla malattia.

Una minore percentuale di casi positivi è ottenuta a Colonia da Dahr (³⁴) (1937) che studiò 200 cani uccisi al canile municipale, e che istituì col siero estratto post mortem prove di agglutinazione e di deviazione del complemento. I risultati positivi ottenuti ammontano infatti a solo 7 per L. i-h. e a 9 per L. canicola (complessivamente 8 %).

Risultati più alti sono invece ottenuti da Petersen e Jacobsen (³⁵) (1937) che esaminarono i sieri di tutti i 53 cani esistenti nel paese danese di Gislev. 18 di questi avevano un tasso di agglutinine superiore all'1:300 per L. i-h., uno per L. canicola.

Di 25 cani risultati negativi e riesaminati dopo 6 mesi, 5 erano frattanto divenuti positivi. Di questi qualcuno aveva mostrato lievi segni di malessere, altri invece avevano continuato apparentemente a godere una buona salute.

Alta è anche la percentuale dei casi positivi trovati da Walch Sorgdrager e Schueffner ad Amsterdam (²²) (1938). Questi AA., su 50 cani presi a caso, ne trovarono 9 positivi per L. i-h. e 13 per L. canicola. È però da tener conto che gli AA. considerano positiva anche un'agglutinazione che raggiunga appena il tasso di 1:10.

Così pure Jensen (³⁶) a Kopenhagen (1937-38) ottiene 109 risultati serologici positivi (70 per *L. canicola*, 33 per *L. i-h.*, 6 a titolo uguale per le due specie) su 208 cani esaminati.

Molto scarsi sono invece i risultati ottenuti a Gand da Bessemans, Wittebolle e De Borchgrave (³⁷) (1938), i quali su 86 cani esaminati, ne trovarono positivo uno solo per *L. canicola*.

Lo stesso anno van der Walle (³⁸) ricerca ad Anversa la presenza di agglutinine nel siero di 100 cani, sacrificati di recente. In 15 casi egli ottiene un risultato positivo per *L. i-h.*, in 29 casi uno per *L. canicola*. In 18 casi però l'agglutinazione non superava il tasso dell'1:100. Anche quest'A., come già Uhlenhuth e Zimmermann (³³), nota che la percentuale dei casi positivi aumenta con l'età dell'animale.

La ricerca diretta di leptospire nell'urina e la inoculazione di poltiglia di reni nella cavia, dànno all'A. risultati costantemente negativi; la cultura invece di frammenti di rene in mezzo di Vervoort-Korthof modificato, gli permette di isolare un unico ceppo di *L. canicola*.

Kubo e Kitaoka (³⁹) (1938) trovano, con l'esame al paraboloide di emulsione renale, 7 cani infetti su 112 esaminati. I 4 ceppi ottenuti in cultura pura, appartenevano alla specie *L. ictero-haemorrhagiae*.

Abbiamo infine lasciate per ultime le ricerche di Reitano e di Morselli (⁴⁰) (1935) che, per esser state eseguite a Roma, ci interessano più da vicino.

Mentre questo lavoro era in corso di stampa, sono uscite ancora le seguenti pubblicazioni su questo argomento: Meyer K. F., Stewart Anderson B., Eddie B. [Am. J. Publ. Health, vol. 29, p. 347-353 (1939)], secondo i quali dal 9 al 60 % di 47 cani esaminati a S. Francisco, hanno agglutinato ceppi di leptospire, in prevalenza *L. canicola*.

Ottosen H. E. [Maanedsskr. Dyr., vol. 51, p. 15-22, 46-56, 68-75 (1939)] che su 583 cani ammalati a Kopenhagen, ne trova 260 sieropositivi (44,5 %) e su 197 apparentemente sani, 55 (27,9 %). La maggior parte dei risultati positivi riguarda *L. canicola*.

Prokopanoff A. [Tierärztl. Rdsch., p. 464-467 (1939)] che a Berlino su 360 cani, ne trova 54 sieropositivi (15 %) e 112 con lesioni renali, per lo meno in parte attribuibili a spirochete.

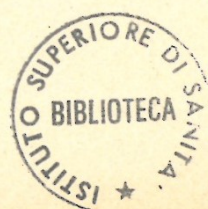
Questi AA. nel periodo settembre 1934 - febbraio 1935, ricercarono la presenza di agglutinine nel siero di 112 cani randagi, ricoverati nel canile del Governatorato di Roma. Il sangue veniva prelevato poco prima della soppressione degli animali, e le prove di agglutinazione venivano eseguite con un ceppo di L. i-h. isolato a Roma nel 1910, da Spinelli e Marchesi ⁽⁴¹⁾, e coltivato in Kaneko. I risultati positivi furono soltanto 4 (agglutinazione in un caso fino a 1:200, in uno fino a 1:400, in due fino a 1:800).

Raggruppiamo nella tabella sottostante, i risultati ottenuti dagli AA. che ci hanno preceduto, e da noi:

LOCALITÀ	Autore	Anno	Numero dei cani esamin.	Percentuale dei casi positivi	Metodo
† (Olanda) . . .	Korthof	1928	43	13 %	Prove serologiche
Medan (Sumatra).	Kouvenaar e Wolff	1930	106	5,7 »	Ricerche di spirochete
Berna.	Huguenin e Bourgeois	1933	?	2 »	Lesioni anatomo-patologiche
Berna.	Huguenin e Bourgeois	1934	?	5,4 »	Lesioni anatomo-patologiche
Roma.	Reitano e Morselli	1935	112	3,57 »	Prove serologiche
Friburgo, Giesen, ecc.	Uhlenhuth e Zimmermann	1936	90	12-22 »	» »
Colonia	Dahr	1937	200	8 »	» »
Gislev (Danimarca)	Petersen e Jacobsen	1937	53	35,9 »	» »
Kopenhagen . . .	Jensen	1938	208	52,4 »	» »
Amsterdam . . .	Walch Sorgdrager e Schüffner	1938	50	44 »	» »
Gand	Bessemans, Wittebolle e De Borchgrave	1938	86	1,2 »	» »
Anversa	van der Walle .	1938	100	44 »	» »
Anversa	van der Walle .	1938	100	0	Ricerca diretta e inoculazione in cavia
Anversa	van der Walle .	1938	100	1 »	Cultura
Tokyo	Kitaoka e Kubo .	1938	112	6,3 »	Ricerche dirette (al paraboloide)
Roma.	Babudieri e Castagnoli	1939	159	5,9 »	Prove serologiche
Roma.	Babudieri e Castagnoli	1939	20	0	Cultura e inoculazione in cavia

Per quanto possedessimo già per Roma i dati di Reitano e Morselli ⁽⁴⁰⁾, pure ritenemmo opportuno per varie ragioni ripetere ed estendere tali ricerche.

In primo luogo la percentuale dei casi positivi ottenuti da questi AA., è molto bassa e inferiore a quella riscontrata in altre città. In questi



ultimi anni si ha l'impressione che le infezioni da leptospire stiano aumentando di frequenza, come risulterebbe anche dalle statistiche di Huguénin e Bourgeois ⁽²⁰⁾, ed era quindi interessante vedere se a distanza di alcuni anni delle ricerche di Reitano e Morselli ⁽⁴⁰⁾, noi avremmo trovato una percentuale più alta di casi positivi. Inoltre mentre i due AA. che ci hanno preceduto hanno usato nelle loro prove un ceppo solo, noi volemmo impiegare più ceppi e fra questi un ceppo di *L. canicola*, che per il cane può avere grande importanza, e due altri ceppi, uno di *L. oryzae* e uno di *L. tipo* « Mezzano » che uno di noi ⁽⁴³⁾ ⁽⁴⁴⁾ ha di recente isolato in Lombardia in casi di leptospirosi umana, e che sembrano costituire due tipi ben diversi dalle altre specie di leptospire europee finora note.

Inoltre volemmo fare alcuni tentativi per isolare sia direttamente in cultura, sia attraverso passaggio per cavia, qualche ceppo di leptospire, prove queste che non erano state eseguite da Reitano e Morselli ⁽⁴⁰⁾.

I cani da noi esaminati, nel periodo che va dal febbraio al luglio 1939, ammontano a 159. Si trattava di animali per lo più randagi, catturati nelle vie di Roma e ricoverati per qualche giorno nel canile del Governatorato prima di venir soppressi. Gli animali, del cui sesso, età e razza veniva presa nota, venivano salassati alla safena esterna alcuni giorni prima della loro soppressione, ed il siero così ottenuto veniva impiegato immediatamente, o tutt'al più il giorno seguente per le prove d'agglutinazione. Queste venivano eseguite in provette, secondo la tecnica di Martin e Pettit ⁽⁴⁵⁾, e per le prove si adoperavano culture fresche ed abbondanti di leptospire, in un terreno costituito da 5 parti di acqua di fonte impoverita dei sali di calcio, mediante prolungata permanenza in autoclave e filtrazione, con l'aggiunta di una parte di siero di coniglio inattivato a lungo. Il terreno era regolato ad un pH di 7,5 con una miscela tampone di fosfati secondo Sørensen, sì da evitare che qualche traccia di acido eventualmente presente nelle provettine o sui vetrini potesse alterare i risultati delle prove serologiche.

Prima dell'uso le culture venivano controllate e quelle che presentavano ammassi spontanei di spirochete, venivano eliminate.

La diluizione minima da cui si partiva era quella di 1:100. Non si ritenne opportuno iniziare da diluzioni minori perchè un risultato positivo ottenuto in tale caso sarebbe stato ben poco probativo.

N.	Sesso	R A Z Z A	Età (in anni)	L. cani- cola " Ut- recht „	L. ictero-haemorrhagiae			L. ory- zeti " Pavia I „	L. tipo Mez- zano " Mez- zano I „	Culture dai reni e inocu- lazione in cavia
					" Zaan „	" Li- ster I. „	" Roma II „			
1	♀	?	?	0	± 100	0	—	0	0	—
2	♀	?	?	0	100	100	—	0	0	—
3	♀	?	?	0	1.000	0	500	100	0	—
4	♀	?	?	0	100	0	—	0	0	—
5	♀	Lupo	3	0	100	0	—	0	0	—
6	♂	Lupo	2	0	± 100	0	—	0	0	—
7	♂	Bracco	3	0	100	0	—	0	0	—
8	♂	Guardia	8	0	500	0	—	0	0	—
9	♂	?	4	0	5.000	0	200	0	100	—
10	♂	?	3	0	10.000	0	10.000	0	0	—
11	♂	?	5	8.000	500	0	± 100	0	0	negat.
12	♂	?	6	0	± 100	0	± 100	0	0	»
13	♂	Bracco	8	0	5.000	100	1.000	0	0	»
14	♂	Scottisch	3	0	1000	0	1.000	0	0	»
15	♀	Lupo	4	0	± 100	± 100	± 100	0	0	»
16	♂	Setter	4	± 100	2.000	500	1.000	0	100	»
17	♂	Pointer	5	0	100	0	0	0	0	»
18	♂	Pointer	8	0	100	0	0	0	0	—
19	♀	Bracco-setter . .	1	0	± 100	0	0	0	0	—
20	♂	Pointer	8	0	500	0	100	0	0	—
21	♂	Pointer	5	0	± 100	0	0	0	0	—
22	♂	Bracco	6	0	± 100	0	0	0	0	—
23	♀	Pastore	5	0	10.000	0	10.000	0	0	—
24	♂	Bracco-spinone .	4	0	2.000	0	2.000	0	0	—
25	♂	Fox	2	0	100	0	0	0	0	—
26	♂	Pastore	5	0	100	0	0	0	0	—
27	♀	Bracco-pointer .	4	0	± 100	0	0	0	0	negat.
28	♂	Bracco-pointer .	3	0	100	0	0	0	± 100	»
29	♀	Spinone	6	± 100	100	0	100	0	0	»
30	♀	Levriero sorcino	4	± 100	0	0	—	0	0	»

± Indica agglutinazione incompleta.

N.	Sesso	R A Z Z A	Età (in anni)	L. cani- cola " Ut- recht "	L. ictero-haemorrhagiae			L. ory- zeti " Pavia I. "	L. tipo Mez- zano " Mez- zano "	Culture dai reni e inocu- lazione in cavia
					" Zaan ,	" Li- ster I. "	" Roma II. "			
31	♂	Lupo	6	0	100	0	0	0	0	negat.
32	♀	Maltese	4	± 100	0	0	—	0	0	»
33	♂	Terrier	6	0	± 100	0	0	0	0	—
34	♂	Segugio.	2	0	500	0	500	0	0	negat.
35	♂	Fox-terrier . . .	3	0	500	0	100	0	0	»
36	♂	Pastore	4	0	2.000	0	2.000	0	0	»
37	♂	Pastore	9	0	1.000	0	500	0	0	»
38	♂	Pastore	2	± 100	0	0	—	0	0	—
39	♂	Pastore	3	10.000	200.000	± 100	200.000	0	0	negat.
40	♂	Pastore	5	0	1.000	0	500	0	0	—
41	♂	Bracco-pointer .	3	0	5.000	0	5.000	0	0	—
42	♀	Bracco-spinone .	13	0	0	500	100	0	0	—
43	♂	Volpino	4	0	0	0	0	100	0	—
44	♂	Pastore	5	0	100	0	100	0	0	—
45	♂	Bracco-pointer .	3	0	20.000	0	10.000	0	0	—
46	♂	Bracco	4	0	10.000	0	5.000	0	0	—
47	♂	Lupo	5	10.000	200.000	0	50.000	0	± 100	—
48	♂	Cocker	3	1.000	0	0	0	0	0	—
49	♀	Bracco-pointer .	3	0	± 100	0	0	0	0	—
50	♂	Lupo	6	0	± 100	0	± 100	0	0	—
51	♂	Bracco-pointer .	4	0	± 100	0	0	0	2.000	—
52	♂	Pastore	5	± 100	0	0	0	0	0	—
53	♂	Bracco	3	0	10.000	0	5.000	0	± 100	—
54	♂	Bracco-pointer .	2	50.000	200.000	0	100.000	0	0	—
55	♀	Spinone	6	0	2.000	0	500	0	100	—
56	♀	Lupo	6	0	10.000	0	10.000	0	0	—
57	♂	Spinone	4	0	5.000	500	1.000	0	0	—

± Indica agglutinazione incompleta.

I ceppi di leptospire impiegati in tali prove, sono stati i seguenti:

L. i-h. « Zaan » proveniente dall'Olanda;

L. i-h. « Lister I. » proveniente dall'Istituto Lister (Londra);

L. canicola « Utrecht » proveniente dall'Olanda;

L. oryseti « Pavia I » proveniente dalla Lombardia;

L. tipo « Mezzano » « Mezzano I » proveniente dalla Lombardia.

Nei casi in cui si otteneva qualche risultato positivo, l'agglutinazione veniva ripetuta anche con il ceppo di L. i-h. « Roma II », che Reitano e Morselli ⁽⁴⁰⁾ avevano impiegato nelle loro prove.

La miscela siero-spirochete veniva tenuta in termostato per un'ora e mezza, e poi esaminata al paraboloide. Oltre che dell'eventuale agglutinazione, si teneva conto anche della lisi.

In 102 casi avemmo risultati del tutto negativi, in 57 invece l'agglutinazione fu positiva per uno o più ceppi.

Riportiamo nella tabella precedente i casi positivi avuti:

Dalla tabella risulta che il numero dei sieri che hanno reagito positivamente con uno o più ceppi di spirochete, ammonta a 57, il che corrisponde ad una percentuale del 35,9 %. Se però consideriamo come sicuramente positive soltanto le agglutinzioni che hanno raggiunto un tasso superiore all' 1:100, la percentuale si riduce al 18,2 %.

Nessuno dei ceppi impiegati nelle prove è stato agglutinato da tutti i sieri positivi. Si va dai massimi dell' 87,7 % del ceppo Zaan, e del 63,9 % di quello Roma II, al minimo del 3,5 % per il ceppo Pavia I. Il ceppo Utrecht ha dato una percentuale del 19,2 %, quello Lister I. e quello Mezzano I del 12,3 %.

Se ora consideriamo le singole specie di leptospire impiegate nelle prove, vediamo che L. canicola è stata agglutinata 11 volte. In cinque casi però si deve ritenere essersi trattato di coagglutinazione (NN. 16, 29, 39, 47, 54) e in 4 casi il titolo delle agglutinine non ha superato il valore di 1:100 (NN. 30, 32, 38, 52), sì che i casi sicuramente positivi per tale specie, si riducono a due: N. 11 - 1:8000, N. 48 - 1:1000). Ad ogni modo questi due casi presentano un interesse particolare perchè essi costituiscono la prima segnalazione, sia pure indiretta, della presenza in Italia di L. canicola, specie finora segnalata soltanto nel Nord-Europa e nel Nord-America.

Lo scarso numero di sieri positivi per L. canicola sembra indicare che in Italia, o per lo meno a Roma, l'infezione da tale spirocheta sia molto più rara (quasi 1/10) che quella da L. i-h. mentre, come abbiamo visto più sopra, in Olanda avviene generalmente il contrario.

In quanto al dibattuto problema dell'individualità specifica o meno, di *L. canicola*, le nostre ricerche non sono in grado di portare un particolare contributo al dibattito. Facciamo rilevare soltanto che dei casi positivi per *L. canicola*, uno non ha dato coagglutinazione per *L. i-h.*, l'altro l'ha data, ma a titolo di molto inferiore ($1/16$). Dei sieri invece positivi per *L. i-h.*, quelli che non hanno superato il titolo di $1:20.000$, non hanno coagglutinato *L. canicola*, nei tre sieri invece che hanno agglutinato a titoli molto elevati ($1:200.000$), la coagglutinazione si è avuta, però a titoli per lo più notevolmente inferiori ($1/4-1/20$).

In complesso possiamo affermare che ci è stato possibile differenziare con facilità i casi attribuibili all'uno o all'altro dei due tipi.

Se passiamo a considerare i risultati positivi per *L. i-h.*, colpisce subito il diverso rendimento dato dai tre ceppi impiegati. Questo è stato massimo per il ceppo Zaan, minimo per quello Lister I., tanto che se avessimo impiegato soltanto quest'ultimo nelle nostre prove, la percentuale dei casi positivi sarebbe stata di appena 3,7 %.

D'altronde non si può accusare tale ceppo di scarsa agglutinabilità generica, perchè uno di noi lo adopera abitualmente, assieme ad altri ceppi di *L. i-h.* nella diagnosi serologica della leptospirosi umana, e sulla settantina di prove positive finora avute, tale ceppo ha dato un alto rendimento, in complesso anche qualche po' superiore a quello dato dallo stesso ceppo Zaan.

Le nostre prove richiamano ancora una volta l'attenzione sulla necessità di usare nelle sierodiagnosi parecchi ceppi di spirochete, perchè altrimenti, data la riconosciuta costituzione ad antigeni parziali delle leptospire, parecchi risultati positivi potrebbero sfuggire. Tale necessità è sostenuta anche di recente, specialmente da Baermann e Zuelzer (⁴⁴), Schlossberger, Grillo e Scheele (⁴⁵), Bau-Kien-Hun (⁴⁶), ecc., mentre altri AA., e ricorderemo fra i più autorevoli Uhlenhuth (⁷⁴) (⁴⁸), Pettit ed Erber (⁴⁰), Kitaoka (⁴⁹), ecc. ritengono sufficiente di usare nelle sierodiagnosi un solo ceppo. Tale opinione non ci sembra sostenibile, perchè nel nostro caso, anche a voler prescindere dal fatto che non era possibile sapere a priori quale ceppo avrebbe dato un miglior rendimento con i nostri sieri, anche se avessimo scelto il ceppo Zaan, il risultato positivo del siero N. 42 ci sarebbe sfuggito.

Il ceppo Roma II è stato nei nostri casi meno sensibile di quello Zaan. In qualche caso non ha rivelato la presenza di agglutinine nei sieri, e quasi sempre, quando le ha rivelate, s'è fermato ad un tasso minore di quello raggiunto dal ceppo Zaan. Ad ogni modo, anche considerando i risultati positivi ottenuti da questo solo ceppo, il loro numero è ben superiore a quello avuto da Reitano e Morselli (⁴⁰).

L. oryzei, che è una specie serologicamente corrispondente a *L. bataviae*, ha dato risultati pressochè costantemente negativi.

In due soli casi (NN. 3, 43) è stata agglutinata e a basso titolo. Nel primo caso si trattava con ogni probabilità di una coagglutinazione, nel secondo il titolo è stato troppo basso per poter attribuirgli una particolare importanza e poter affermare che l'animale avesse superato una infezione da tale spirocheta. Ad ogni modo queste prove confermano ancora una volta il netto distacco serologico che esiste fra tale specie e quella i.h.

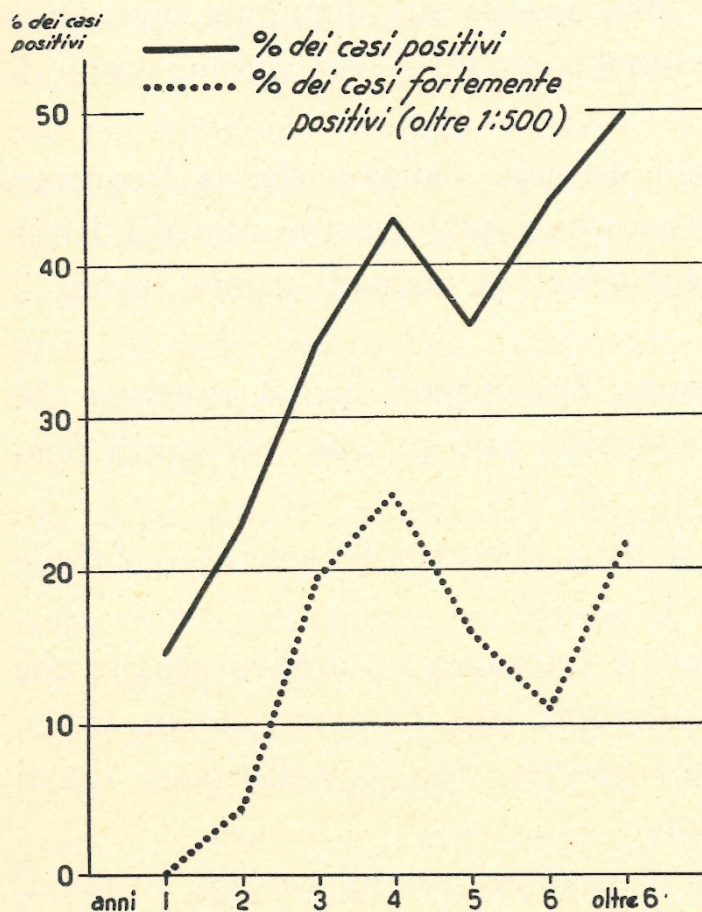
Dei sette risultati positivi ottenuti per la leptospira del tipo Mezzano, in sei casi si trattava con ogni probabilità di coagglutinazione; invece particolarmente interessante è il risultato del cane N. 51 che ha agglutinato tale ceppo ad un titolo discretamente alto e 20 volte superiore a quello raggiunto col ceppo Zaan. Ricorderemo che i ceppi « Mezzano » sono stati isolati da Babudieri e Bianchi (⁴⁴) in una sola località della Lombardia (Sannazzaro dei Borgundi - Pavia) e le prove serologiche istituite con sieri provenienti da varie regioni italiane, non hanno mai permesso di rilevarne l'eventuale presenza in altri posti. Il nostro risultato positivo, fa invece sospettare che la distribuzione di tale spirocheta non sia così limitata, e che essa si possa trovare anche all'infuori delle località dove è stata finora isolata.

Se ora passiamo a considerare i rapporti fra età dei cani esaminati e positività delle reazioni, possiamo raggruppare tali dati nel seguente specchietto:

ETÀ (in anni)	Fortemente positivi (oltre 1 : 500)	Debolmente positivi (fino 1 : 500)	Negativi	Totale
0-1	0	1	6	7
1-2	1	4	18	23
2-3	6	5	20	31
3-4	7	5	16	28
4-5	4	5	16	25
5-6	2	6	10	18
oltre 6	3	4	7	14

Se da questi dati calcoliamo i valori percentuali, possiamo trarne la seguente caratteristica curva di variabilità, che indica i rapporti fra numero percentuale di casi positivi ed età degli animali.

L'esame della curva ci mostra che in linea di massima si ha un regolare aumento della positività, con l'aumentare dell'età. I casi posi-



tivi, che non raggiungono il 15 % nel primo anno di vita, toccano il 50 % dopo i 6 anni. Un andamento simile è stato constatato anche da Uhlenhuth e Zimmermann ⁽⁵⁰⁾ e da van der Walle ⁽³⁸⁾, nelle loro ricerche.

Se consideriamo invece solo i casi fortemente positivi, quelli cioè che agglutinano ad oltre 1:500, vediamo che nel primo anno d'età non se ne riscontra nessuno, mentre l'acme si ha al quarto anno, dopo la quale età la percentuale tende a discendere.

Come si devono interpretare tali risultati? Anzitutto

conviene discutere il valore che si deve dare alle agglutinzioni a basso titolo (1:100). A nostro parere queste non hanno sempre lo stesso significato. In qualche caso, quando l'agglutinazione è incompleta, e avviene con un ceppo solo, si può anche dubitare che sia specifica; quando invece essa è ben evidente e si ha con più ceppi, è più verosimile pensare di trovarsi di fronte ad una infezione in atto o ad una di vecchia data.

Se adottiamo questo criterio, vediamo che nel primo anno d'età i risultati positivi sono ridotti a 0. Ciò è comprensibile, perchè nel primo anno di vita il cane ha piuttosto scarsi contatti col mondo esterno e con le possibili fonti d'infezione, inoltre nei casi in cui contrae l'infezione, quasi sempre soccombe ad essa.

I contatti si fanno invece più frequenti quando l'età aumenta e il massimo delle infezioni si deve raggiungere tra i 3 ed i 5 anni d'età, periodo in cui riscontriamo il massimo di risultati positivi ad alto titolo, indici questi di infezioni avvenute di recente.

Gli anni successivi la percentuale continua ad aumentare, ma quasi esclusivamente a carico delle reazioni deboli, che indicano infezioni avvenute da molto tempo. Il cane invecchia, la sua diminuita vivacità lo espone di meno alle cause d'infezione, spesso è già immunizzato di fronte alla leptospira.

Se consideriamo il sesso degli animali, vediamo che la frequenza dei risultati positivi predomina nei maschi, i quali (su 100 animali) danno il 41 % di positività, mentre le femmine (44 animali) danno appena il 27,3 %.

Anche Klarenbeek (¹⁶), Ottosen, Prokopanoff hanno osservato che la leptospira colpisce più frequentemente i cani maschio che quelli femmina.

Quale sia l'interpretazione da darsi a questo fenomeno, è difficile a dirsi.

In quanto ai rapporti fra razza e infezione, è intuitivo pensare che i cani da caccia che vivono in campagna, che s'immergono in acqua, dovrebbero dare il massimo di casi positivi, mentre molto scarsi questi dovrebbero essere nei cani da salotto.

Però nei nostri casi si tratta di cani per lo più randagi, e quindi esposti in maniera pressochè uniforme alla possibilità d'infettarsi. Perciò i dati riportati nella sottostante tabella, pur dimostrando un comportamento in complesso abbastanza corrispondente alle premesse, non danno tuttavia quei risultati così netti che ci si potrebbe aspettare.

R A Z Z A	Animali esaminati	Risultati positivi	Percentuale dei risultati positivi
Bracco-pointer	14	7	50 %
Lupo	16	7	43,8 »
Spinone.	7	3	42,8 »
Pointer.	10	4	40 »
Pastore.	28	9	32,2 »
Bracco	16	5	31,2 »
Fox-terrier	12	3	25 »
Volpino	5	1	20 »
Segugio	6	1	16,6 »
Razze varie	20	9	45 »

Oltre alle ricerche serologiche che hanno costituito la parte principale del nostro lavoro, abbiamo prelevato (subito dopo la morte) i reni a 18 dei cani che avevano dato risultato positivo alle prove d'agglutinazione, ad uno negativo e ad uno che presentava subittero, ma aveva dato una sero-reazione negativa. Da tali organi sono state fatte culture in terreno di Reiter e in terreno di Vervoort modificato. Con una poltiglia di reni sono state inoltre inoculate in peritoneo due giovani cavie per ciascun cane. Le cavie sono state tenute in osservazione per 40 giorni. Di quelle che nel frattempo venivano a morte, si faceva la sezione e col materiale da esse prelevato, si sono apprestate culture in terreni per spirochete. Le cavie superstiti sono state salassate, e nel loro siero si è ricercata la presenza di eventuali agglutinine per le leptospire, e ciò per rivelare un'eventuale infezione inapparente o superata.

Tutte queste prove ci hanno però dato risultati costantemente negativi. L'unico risultato di un certo interesse è costituito dal reperto, in una delle culture istituite dal rene del cane N. 15, di una spirocheta, non però del tipo della leptospira, spirocheta che non ci è stato dato di poter studiare ulteriormente, perchè in breve sopraffatta dallo sviluppo di altri germi presenti nella cultura.

La difficoltà di ottenere in cultura dai cani siero-positivi una leptospira, difficoltà incontrata anche da altri AA. [van der Walle (³⁸)], ci porta a ritenere che, contrariamente a quanto avviene per i ratti, soltanto di rado i cani possano diventare per lungo tempo portatori di leptospire, o per lo meno di leptospire del tipo L. i-h. Questa constatazione è importante, perchè porta a dar scarso peso alla possibilità affermata da alcuni AA. che il cane possa costituire un'importante fonte di contagio per l'uomo. Il cane è pericoloso durante lo stadio acuto della malattia e per qualche tempo dopo [in un caso di Petersen e Jacobsen (⁹) per oltre tre mesi] e infatti è quasi sempre in questo stadio che ha infettato l'uomo nei casi finora descritti; può essere ancora più pericoloso se, come talvolta certamente accade, l'infezione non dà in esso segni evidenti di malattia; ma bisogna ritenere che difficilmente l'infettività permanga a lungo, dopo la guarigione clinica.

Come avvenga l'infezione nel cane, non si può dire con assoluta sicurezza. È probabile che questa avvenga alle volte attraverso l'acqua infetta, altre volte direttamente dai ratti che certe razze di cane assal-

tano e uccidono volentieri, alle volte, specie per *L. canicola*, da cane a cane, sia col coito, sia attraverso l'urina che, come è noto, i cani spargono con abbondanza e annusano volentieri.

Ad ogni modo, degna di rilievo è l'alta percentuale di casi positivi che le nostre ricerche hanno rilevato, percentuale che corrisponde quantitativamente, se non qualitativamente a quella segnalata dalla maggior parte degli AA. nordici che si sono occupati dell'argomento.

Dalle nostre ricerche risulta che Roma è tra le città che presentano un'alta percentuale di cani infetti, e ciò è ben comprensibile quando si ricordi che a Roma l'infezione fra i ratti è frequente [Marchesi ⁽⁵²⁾ ⁽⁵³⁾, Marchesi e Spinelli ⁽⁴¹⁾] e che anche nell'uomo ogni anno sono segnalati casi di malattia, alle volte gravi e anche mortali.

RIASSUNTO

Gli AA. ricercano la presenza di agglutinine per le leptospire, nel siero di 159 cani di Roma. I ceppi impiegati sono stati 3 di *L. ictero-haemorrhagiae*, uno di *L. canicola*, uno di *L. oryzei* e uno di *L.* tipo « Mezzano ». I risultati positivi ottenuti ammontano a 57 (35,9 %) di cui due per *L. canicola* (prima segnalazione in Italia), uno per *L.* tipo « Mezzano » (prima segnalazione nel cane) uno, dubbio, per *L. oryzei*, il resto per *L. i-h.*

In 25 casi però il tasso delle agglutinine non superava l'1:100.

I tentativi culturali eseguiti in 20 casi, e l'inoculazione di pappa di rene nelle cavie, hanno dato esito costantemente negativo.

Gli AA. discutono i risultati ottenuti, e richiamano in particolar modo l'attenzione sulla necessità di usare, in queste prove, numerosi ceppi di leptospire.

SUMMARIUM

AA. agglutinarum praesentiam contra leptospiras in sero centum quinquaginta novem canum Romae investigant.

Tres stipites *L. ictero-haemorrhagiae*, alter *L. canicolae*, alter ordinis, qui dicitur « Mezzano » tractati sunt.

Positivi rerum exitus attingunt quinquagesimum octavum (35,9 %) quorum duo *L. canicolam*, (primum signum in Italia) alter, ordinem,

qui dicitur « Mezzano » (primum in cane signum) ultimus, dubius vero, L. oryzeti, cetera L. i-h.

Viginti quinque casibus agglutinatio usque ad dilutionem 1 % fiebat.

Culturae, quae in viginti casibus factae sunt, atque pulticulae renis inoculatio in caviis, exitus constanter negativos dederunt.

AA. de istis exitibus disserentes, in agglutinationibus, plurimos stipites leptospiroseos utendos (esse) adfirmant.

Roma. — Istituto di Sanità Pubblica - Laboratorio di Batteriologia.

BIBLIOGRAFIA

(¹) ESSEVELD H., COLLIER W. A., « Leptospirose bei Katzen auf Java », Zeitsch. f. Immunitätsf., 93, 512 (1938).

(²) SCHMIDT H., « Untersuchungen von Katzennieren auf Leptospiren », Vet. Med. Diss. Wien, Ref. Zbl. Bakt., 126, 286 (1937).

(³) WIRTH D., « Die Leptospirose (Weilsche Krankheit) bei Tieren », Wien. klin. Wschr., II, 1115 (1937).

(⁴) KRUMBEIN FRIELING, « Zur Weilschen Krankheit », Dtsch. med. Wschr., 564 (1916).

(⁵) LAWRENCE MONTAGU C. J., OKELL C. C., « The association of human and canine jaundice with an illustrative case », Lancet II, 327 (1929).

(⁶) SCHUEFFNER W., « Recent work on Leptospirosis », Trans. roy. Soc. trop. Med. London, 28, 7 (1934).

(⁷) SCHUEFFNER W., WALCH-SORGDRAGER B., « Infection humaine par Leptospira canicola », Bull. mens. Off. internat. Hyg. Publ., 29 297 (1937).

(⁸) SCHUEFFNER W., KOTTER G. F., SCHULTZ D., « Erfahrungen über menschliche Ansteckungen mit Hunde-Leptospiren (L. canicola) », Geneesk. Tijdschr. Nederl.-Indië, 75, 534 (1935).

(⁹) BORG PETERSEN C., JACOBSEN E., « Un cas de spirochétose ictéro-hémorragique (maladie de Weil) vraisemblablement transmis par un chien », C. R. Soc. Biol., 126, 797 (1937).

(¹⁰) ROOS C. J., WALCH-SORGDRAGER B., SCHUEFFNER W. A. P., « Een epidemie van L. canicola-infectie bij menschen en honden », Nederl. Tijdschr. Geneesk., III, 3324 (1937).

(¹¹) MEYER K. F., EDDIE B., ANDERSON A., STEWART, « Canine, murine, and human Leptospirosis in California ». Proc. of the Soc. for Exp. Biol. and Med., 58, 17 (1938).

- (¹²) WELCKER A., « Die Laboratoriumsinfektionen mit Weilscher Krankheit », C. f. Bakt., 141, 400 (1938).
- (¹³) TETZNER E., « Serologisch sicher gestellter Fall von Weilscher Krankheit-Typ *Leptospira canicola* beim Mensch unter dem Bilde einer Meningitis ». Klin. Wschr., I, 508 (1938).
- (¹⁴) LUKEŠ J., « Spirochäten als Erreger der Stuttgarter Hundeseuche », Dtsch. tierärztl. Wschr., 137 (1923).
- (¹⁵) KLARENBECK A., « Presence de spirochètes du type *Leptospira* dans les reins des chiens atteints d'ictère et de fièvre typhoïde », Ann. I. Pasteur, 1, 1156 (1927).
- (¹⁶) KLARENBECK A., « Klinische Statistik der Leptospirosen des Hundes », C. f. Bakt., 142, 83 (1938).
- (¹⁷) KLARENBECK A., WINSSER J., « De leptospirosen bij de kleine huisdieren. Een statistisch en experimenteel onderzoek », Tijdschr. Diergeneesk., 65, 666 (1938).
- (¹⁸) SCHLOSSBERGER H., POHLMANN R., « Serologische Untersuchungen über Stuttgarter Hundeseuche », C. f. Bakt., 136, 182 (1936).
- (¹⁹) HUGUENIN B., « Des Types d'évolution de Spirochétoze (ou leptospirose) du chien », Atti del III Congr. Internaz. di Patol. Comp. Atene, p. 402 (1936).
- (²⁰) HUGUENIN B., BOURGEOIS E., « Ueber Leptospirosis beim Hund », Dtsch. tierärztl. Wschr., I, 483 (1936).
- (²¹) BOURGEOIS E., « Remarques sur l'anatomie pathologique de la spirochétoze du chien », Atti del III Congr. Internaz. di Patol. Comp. Atene, p. 395 (1936).
- (²²) WALCH SORGDRAGER B., SCHUEFFNER W., « Die Selbständigkeit der *L. canicola* », C. f. Bakt., 141, 97 (1938).
- (²³) SCHUEFFNER W., « Zu dem Artikel "Ueber Leptospirosen in Deutschland" von W. Rimpau, H. Schlossberger und J. Kathe », C. f. Bakt., 142, 220 (1938).
- (²⁴) SCHLOSSBERGER H., « Bemerkungen zu den vorstehenden Ausführungen von Prof. Dr. W. Schüffner », C. f. Bakt., 142, 223 (1938).
- (²⁵) RIMPAU W., SCHLOSSBERGER H., KATHE J., « Ueber Leptospirosen in Deutschland », C. f. Bakt., 141, 318 (1938).
- (²⁶) JUNGHERR E., « Observations on the canine spirochetosis in Connecticut », Journ. Amer. vet. med. Ass., 44, 601 (1937).
- (²⁷) AELLIG, « Ikterus gravis beim Hunde », Z. Infkh. Haustiere, 39, 169 (1931).
- (²⁸) VAN DER HOEDEN J., « Specificke antistoffen in urine bij de zieke van Weil », Nederl. Tijdschr. Geneesk., 2, 1943 (1935).
- (²⁹) VAN DER HOEDEN J., « Anticorps spécifiques de la Maladie de Weil dans l'urine », Ann. I. Pasteur, 56, 206 (1936).
- (³⁰) ESSEVELD H., « Statistische und experimentelle Beiträge zur Weil-Frage in Nederland », Diss. Amsterdam 193, Riass. Zbl. Hyg., 40, 722 (1938).

(³¹) KORTHOFF H., « Prooven mot *Leptospira icterohaemorrhagiae* », Veerslag en Mededeel. betr. Volksgezondheid, p. 272 (1928).

(³²) KOUVENAAR W., WOLFF J. W., « Honden als *Leptospira*-Dragers (Voorloopige Mededeeling) », Ned.-Indische Bladen voor Diergeneeskunde, 41 (1929).

(³³) UHLENHUTH P., ZIMMERMANN E., « Hunde als Träger der Spirochäten vom Weil-Typus », Dtsch. med. Wschr., I, 891 (1936).

(³⁴) DAHR P., « Ueber das Vorkommen von Antikörper gegen *Spirochaeta icterogenes* und *Spirochaeta canicola* bei Hunden », Klin. Wschr., 16, 191 (1937).

(³⁵) BORG PETERSEN C., JACOBSEN E., « Recherche sur la diffusion de la leptospirose des chiens dans un village danois », C. R. Soc. Biol., 126, 799 (1937).

(³⁶) JENSEN B. H., « Om *Leptospirainfektioner* », Maanedsskr. Dyrl., 50, 177 (1938).

(³⁷) BESSEMANS A., WITTEBOLLE P., DE BORCHGRAVE O., « *Leptospiroses canicole et ictérohémorragique en Belgique* », C. R. Soc. Biol., 129, 906 (1938).

(³⁸) VAN DER WALLE N., « Recherches sur l'existence d'infections a leptospires chez les chiens a Anvers », C. R. Soc. Biol., 128, 804 (1938); Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 28, 313 (1938).

(³⁹) KUBO I., (cit. da Kitaoka), Tokyo Igakkai-Zasshi, 52, 560 (1938).

(⁴⁰) REITANO U., MORSELLI G., « Infezione da spirochete dell'ittero emorragico, nei cani randagi a Roma », Giorn. Batteriol. e Immunol., 15, 454 (1935).

(⁴¹) SPINELLI A., MARCHESI F., « Ricerca della spirocheta dell'ittero emorragico nei ratti di chiavica di Roma. Contributo alla epidemiologia del morbo di Weil in Roma », Boll. e Atti R. Accad. Med. di Roma, 59, 346 (1933).

(⁴²) PETTIT A., ERBER B., MOLLARET P., STEFANOPOULO G., GOEZ Y., « Les Spirochétoses », Atti del III Congr. Internaz. di Patol. Comp., Atene, p. 223 (1936).

(⁴³) BABUDIERI B., « *Leptospira oryseti*, agente di una nuova leptospirosi italiana », Riv. di Parassit., 3, 93 (1939).

(⁴⁴) BABUDIERI B., BIANCHI L., « Studio di un episodio epidemico di leptospirosi delle risaie, verificatosi in provincia di Pavia », Rend. Ist. San. Publ. (in corso di stampa) (1939).

(⁴⁵) PETTIT A., « Contribution a l'étude des Spirochétidés » (1928).

(⁴⁶) BAERMANN G., ZUELZER M., « Die Einheitlichkeit aller tier- und menschenpathogenen *Spirochaeten* vom Typus der *Spirochaeta icterogenes* syn. *icterohaemorrhagiae* und der mit ihr verwandten *Wasserspirochaete* vom gleichen Typus », C. f. Bakt. I Abt., 105, 345 (1928).

(⁴⁷) SCHLOSSBERGER H., GRILLO J., SCHEELE L., « Ueber das Vorkommen von Typen bei der Spirochäte der Weilschen Krankheit », Klin. Wschr., II, 1133 (1935).

(⁴⁸) BAU-KIEN-HUN, « Untersuchungen über die Weilsprochaete », C. f. Bakt., 138, 413 (1937).

(⁴⁹) UHLENHUTH P., « Zur Typenfrage der Spirochaeta icterogenes und pseudoicterogenes », Festschr. Bernhard Nocht, p. 636, Hamburg (1937).

(⁵⁰) UHLENHUTH P. ZIMMERMANN E., « Zur Epidemiologie und Therapie der Weilschen Krankheit », 16 Tagg. dtsh. Ver. Mikrobiol 1935, C. f. Bakt., 135, 151 (1935).

(⁵¹) KITAOKA M., Ueber die Typenfrage der Rattenstämme von *Leptospira icterohaemorrhagiae* in Japan », C. f. Bakt., 138, 163 (1937).

(⁵²) MARCHESI F., « Diffusione della spirocheta dell'ittero emorragico nei ratti di chiavica in diversi tratti del Tevere (in Roma) e dell'Aniene », Boll. e Atti R. Accad. Med. Roma, 60 (1935); Policlin. (sez. prat.) 842 (1935).

(⁵³) MARCHESI F., « The Spirochaeta of infective haemorrhagic Jaundice found in rats in Rome », Journ. of Trop. Med. and Hyg., 38, 213 (1935).
