

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
ANNO CCC.
1903

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XII.

2° SEMESTRE.



ROMA
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1903

Torneremo sull'argomento, quando, nella descrizione degli stadii, ci dovremo occupare del breve studio di Linstow.

Colgo l'occasione per porgere i più sentiti ringraziamenti al prof. Tito Gualdi, direttore dell'Ufficio di Sanità del Comune di Roma, il quale rese possibili le nostre ricerche ad Ostia, permettendoci di abitare per alcun tempo la Casina degli Inglesi, di proprietà municipale.

Mi è caro anche significare la mia riconoscenza alla Colonia Agricola Ravennate, ed in particolar modo al fattore Francia, per la larghezza usata verso di noi, lasciando a nostra disposizione il bestiame necessario ai nostri studii. È questo non piccolo titolo di benemerenza, tanto più che ognuno sa come i proprietari siano di solito estremamente gelosi del loro bestiame.

Zoologia. — *Ulteriori studi sulla Filaria immitis, Leidy.*

Nota preliminare del dott. G. NOÈ, presentata dal Socio B. GRASSI.

Questa Nota sarà pubblicata nel prossimo fascicolo.

Zoologia. — *Nuove ricerche sul modo in cui avviene l'infezione da Anchylostoma* (1). Nota di GINO PIERI, presentata dal Socio B. GRASSI.

In seguito alla pubblicazione delle mie esperienze sulla trasmissione dell'*Anchylostoma duodenale* (2), dalle quali sembrava esclusa la possibilità di una infezione per penetrazione delle larve del parassita dalla superficie cutanea fino all'intestino, affermata ripetutamente dal dott. A. Looss (3), questi pubblicò recentemente nel Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten (4), i risultati di alcune sue esperienze ulteriori, che confermerebbero invece la sua affermazione.

Della pubblicazione del Looss io trascurerò la parte personale e polemica, nè entrerò in merito al valore scientifico delle nuove esperienze da lui riportate, non trovando, nella relazione che egli ne fa, riportati dettagliatamente i dati necessari per chiarire le condizioni precise in cui esse si

(1) Lavoro eseguito nel laboratorio di Anatomia comparata dell'Università di Roma.

(2) Gino Pieri, *Sul modo di trasmissione dell'Anchylostoma duodenale*. Rendiconti della R. Accademia dei Lincei, vol. XI, 1° sem., serie 5ª, fasc. 5ª, 1902.

(3) Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, volume XXIV, pag. 483; Ib., vol. XXIX, n. 18.

(4) Ib., vol. XXXIII, n. 5. A. Looss, *Weiteres über die Einwanderung der Anchylostomen von der Haut aus* (pag. 330-343).

sono svolte, ed escludere ogni sospetto sulle possibilità di infezione per la via orale.

Le esperienze condotte dal Looss per confermare la sua ipotesi sono tre. La prima fu compiuta sull'uomo per mezzo di larve di *Anchylostoma (Dochmius) duodenale*; le uova degli anchilostomi, sviluppatasi dalla presunta infezione attraverso la pelle, comparvero nelle feci del soggetto su cui il Looss sperimentò 71 giorni dopo la deposizione delle larve sulla pelle. Le altre due furono fatte su due cani, con larve di *Dochmius trigenocephalus*; anche queste ebbero secondo il Looss risultato positivo: i due cani morirono, dice il Looss, di Anchilostomiasi acuta, uno al decimo giorno dalla deposizione delle larve sulla pelle, il secondo nella notte fra il nono e il decimo giorno. Gli anchilostomi rinvenuti nell'intestino dei cani avevano per la massima parte raggiunto lo stadio definitivo. La durata dello sviluppo dei parassiti nei cani si era dunque mostrata nell'infezione attraverso la pelle uguale a quella che si verifica nella infezione per via orale; nell'uomo invece lo sviluppo dell'infezione attraverso la pelle aveva avuto una durata molto maggiore di quella con cui si verifica quella per via orale (4-5 settimane). Il Looss riferisce tale diversità di durata al differente punto della pelle scelto per la penetrazione delle larve: nell'uomo le larve furono deposte sulla pelle dell'avambraccio vicino al polso, nei cani sulla pelle della regione toracica un po' dietro la scapola.

Era naturale che dalla pubblicazione del Looss io fossi spinto a rinnovare le esperienze sulla dibattuta questione.

Poichè il riscontrare i parassiti già liberi nell'intestino al termine dell'esperienza potrebbe anche provenire da una infezione assunta casualmente per via orale, tentai di sorprenderli nel presunto stadio in cui dovrebbero attraversare la parete intestinale.

Guidato da questo criterio intrapresi alcune esperienze sul *Dochmius trigenocephalus* del cane (1).

Il 15 marzo 1903 iniziai, nel termostato alla temperatura di + 28° C, alcune culture di uova di *Dochmius*; dopo appena cinque giorni le culture presentavano già alcune larve incapsulate; man mano che le larve maturarono io le raccolsi e le conservai nell'acqua. Il 30 marzo presi un cane che aveva una lieve infezione di *Dochmius* (circa 1 uovo ogni due preparati di feci diluite, delle dimensioni dei comuni coprioggetti), il che non importava per l'esperienza che mi prefiggevo. Sulla regione dorsale di esso, dietro la scapola, tagliai il pelo con le forbici fino all'altezza di 1 mm: inumidii con un po' d'ovatta bagnata, e lasciai sgocciolare sul posto cinque gocce della poltiglia del fondo delle culture in cui brulicavano le larve, mature e vivaci; calcolo che le larve così applicate sulla pelle fossero oltre duecento. Il cane diede in breve

(1) In queste esperienze ebbi cortese aiuto dal dott. Giovanni Nòè.

segno di risentire vivo prurito sul luogo ove furono deposte le larve, tentando ripetutamente di mordersi e di grattarsi, il che gli fu impedito con cura. Dopo circa due ore la poltiglia si era disseccata; ne esaminai al microscopio una quantità che prima dell'esperienza avrebbe potuto contenere una cinquantina di larve: non ne conteneva più che una. Quindi applicai sul punto della tentata infezione un vetrino d'orologio, lo fissai con striscie di cerotto, fasciai accuratamente il tronco del cane, e lo lasciai fasciato in permanenza (1). Il giorno seguente (31 marzo) rinnovai l'esperienza sgocciolando un numero di larve uguale all'incirca a quello della prima volta su un punto della pelle vicino a quello su cui avevo compiuto la prima esperienza e dove si era manifestato. Applicai anche questa volta il vetrino, il cerotto, le fasce.

Nei giorni 1, 2, 3 aprile ripetei l'esperienza in condizioni identiche su altri punti della regione dorsale e lombare del cane.

Nota di passaggio che in questa, come nelle posteriori esperienze sui cani, non si verificarono le scariche diarroiche, poche ore dopo l'applicazione delle larve, osservate dal Looss negli esperimenti riferiti; nè osservai alterazioni nella defecazione durante il corso delle esperienze.

La mia intenzione nel tentare queste varie infezioni a distanza di un giorno l'una dall'altra, era quella di sorprendere i vari stadi della penetrazione delle larve (se questa avvenisse) fino al lume intestinale.

A tale scopo il 5 aprile (7° giorno dell'esperienza) uccisi il cane. Gli organi della cavità toracica e addominale nulla presentavano di anormale. L'intestino tenue, legato preventivamente ai due capi, fu aperto. Sulla mucosa trovai quattro *Dochmius* perfettamente sviluppati e sessualmente maturi: nessuna possibilità dunque che si trattasse di anchilostomi provenienti dall'infezione attraverso la pelle, erano senza dubbio quelli dell'infezione preesistente.

La superficie della mucosa fu quindi ispezionata colla lente senza riscontrarvi nulla di notevole, eguale risultato negativo ebbe l'esame della parete intestinale e del mesenterio. Infine tagliai con le forbici la mucosa per tutta la estensione dell'intestino fino alla profondità della tunica muscolare, e la

(1) Credei opportuno prendere queste precauzioni per evitare (conoscendo la facoltà delle larve di resistere vari giorni al disseccamento) che il cane, nel tempo che seguì l'esperienza, leccandosi o grattandosi sul posto, potesse ingoiare qualche larva capace di infettarlo. Il Looss riferisce che egli, nella sua esperienza sui cani, due ore dopo l'applicazione delle larve, bagnò per un minuto la pelle nel punto dell'infezione con alcool a 96°, affinché, egli dice, le larve che restassero ancora viventi sulla pelle o sui peli fossero sicuramente uccise, e non potessero dare origine a una infezione per l'apparato digerente. Ma a me sembra che, con tale lavaggio, abbiano potuto restare uccise anche le altre larve, quelle, secondo lui, destinate all'infezione attraverso la pelle, per quanto già penetrate nei follicoli dei peli.

esaminai con cura al microscopio; feci insomma tutte le ricerche possibili, giovandomi anche della compressione, il risultato fu ugualmente negativo.

Nel 7° giorno dell'infezione non si trovavano dunque larve nè anchilostomi in via di sviluppo nel lume intestinale, nè nelle pareti dell'intestino, nè nel mesenterio.

Escludo che tale risultato possa derivare dal materiale improprio usato nell'esperienza. Che il cane non fosse refrattario all'infezione da anchilostoma, lo dimostra la piccola infezione stabilitasi precedentemente alla esperienza. Che le larve usate fossero mature e capacissime di infettare lo dimostra il seguente dato di controllo: lo stesso giorno 30 marzo in cui iniziai l'esperienza, feci ingoiare un certo numero di larve, prese dalle stesse culture, ad un altro cane che aveva anch'esso una leggera infezione di *Dochmius*, della stessa entità all'incirca di quella esistente nel cane che servì alla esperienza riferita; dopo una ventina di giorni il numero di uova di *Dochmius* riscontrabile nelle feci del cane infettato per via orale crebbe notevolmente (8-10 per preparato), il che significa che le larve ingoiate si erano sviluppate e avevano raggiunto la maturità sessuale.

I risultati dell'esperienza mi sembrarono sicuri e dimostrativi; tuttavia per ovviare alle obiezioni che il termine di sette giorni non fosse sufficiente alle larve per giungere dalla pelle alla parete intestinale (il Looss aveva del resto trovato gli anchilostomi liberi nell'intestino e giunti all'ultimo stadio di sviluppo già al 10° giorno!) decisi di rinnovare l'esperienza.

Il 14 aprile in un cane perfettamente libero da infezione di *Dochmius* tagliai con le forbici il pelo in corrispondenza alla regione lombare, inumidii la pelle, sgocciolai oltre 300 larve mature, lasciai disseccare l'acqua in cui queste erano sospese, quindi coprii con un vetrino di orologio, fissai il vetrino con striscie di cerotto, fasciai il cane in permanenza.

Il 23 aprile, al 10° giorno della esperienza, uccisi il cane. Nulla di anormale nei visceri, nè nell'intestino, nel contenuto del quale non trovai alcun anchilostoma, nè allo stato larvale, nè allo stato adulto. Uguale risultato negativo ebbero l'ispezione colla lente della parete intestinale in trasparenza, del mesenterio, e l'esame al microscopio della mucosa staccata per tutta l'estensione dell'intestino, non che molte altre ricerche.

Ancora un'altra esperienza volli provare, che confermasse i risultati delle precedenti, e in cui il termine fra il tentativo di infezione del cane e la morte di esso fosse ancora più lungo.

Il 6 agosto su di un cane indenne anch'esso da infezione di *Dochmius* applicai, nelle modalità e colle precauzioni prese nelle esperienze surriferite, circa 400 larve mature, lasciai disseccare l'acqua in cui erano contenute, coprii col vetrino, fissai col cerotto, fasciai il cane.

Il 18 agosto, 13° giorno dell'esperienza, nel cane ucciso procedetti a tutti gli esami eseguiti nelle precedenti esperienze: nel contenuto intestinale.

nelle pareti dell'intestino, nello spessore della mucosa, nel mesenterio, non rinvenni nè i *Dochmius*, nè le loro larve.

In conclusione, le tre esperienze sui cani col *Dochmius trigonocephalus*, condotte nelle condizioni più favorevoli, con tutte le precauzioni che mi sembrarono necessarie e sufficienti, mi hanno dato risultato recisamente negativo sul verificarsi di una infezione per la penetrazione delle larve attraverso la pelle.

Era mio desiderio anche rinnovare le esperienze già da me tentate sull'*Anchylostoma duodenale*, e ciò mi fu possibile per la cortesia dell'illustre prof. Maffucci, il quale mi fece avere le feci di un infermo di anchilostomiasi degente nell'ospedale di Pisa.

Dalle colture iniziate al termostato a 28° C. ebbi in breve una buona quantità di larve incistate, mature e vivaci.

Il giorno 29 aprile iniziai l'esperimento. Non potei compierlo su me stesso, sia perchè attualmente io ospito ancora qualche anchilostoma, residuo di una infezione provocata sperimentalmente parecchi mesi or sono e di cui non mi sono liberato completamente, sia anche perchè a me che ho continuamente fra le mani colture di larve, è difficile evitare ulteriori infezioni casuali per via orale. Alla difficoltà di trovare un soggetto su cui tentare l'infezione ovviò il prof. B. Grassi ritentando sopra lui stesso l'esperimento.

Il 29 aprile sulla pelle del piede del prof. Grassi e precisamente fra le dita e alle radici di queste, deposi dieci gocce di acqua contenenti ciascuna oltre cinquanta larve, e attesi che asciugassero. Sul piede fu quindi messa la calza e lasciata in permanenza per cinque giorni, per evitare che, toccando, qualche larva sopravvivate potesse attaccarsi alle mani e produrre una casuale infezione per via orale. Il 5 maggio fu tolta la calza e lavata la pelle con una soluzione di sublimato per uccidere le larve che eventualmente fossero ancora sulla pelle.

L'esame delle feci, eseguito ripetutamente fino ad oggi, ha dato risultato costantemente negativo rispetto alla presenza di uova del parassita. L'infezione attraverso la pelle non si è dunque verificata.

Concludendo, quattro nuove esperienze, tre col *Dochmius trigonocephalus* nel cane, una coll'*Anchylostoma (Dochmius) duodenale* nell'uomo, in cui si tentò di produrre l'infezione col depositare centinaia di larve sulla pelle, sono riuscite negative; in nessun caso si è verificato lo stabilirsi di una infezione di *Anchylostoma* nei soggetti d'esperimento. Io debbo perciò ritenere che l'unica via per cui avvenga la infezione sia quella orale, per l'ingoiamento delle larve mature.

Nel chiudere la presente Nota ringrazio il prof. Battista Grassi, sotto la direzione e il controllo del quale io ho eseguito queste ricerche.