

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCII.

1905

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XIV.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVICCI

1905

organismi vivi e degli inquinamenti, di cui essi possono essere causa. Nello stesso modo, che nei comuni preparati batteriologici si consiglia una colorazione, che permetta una più sicura diagnosi e differenziazione di elementi facili a confondersi con estranee parvenze, così dalle mie ricerche risulta un metodo (trattamento con tellurite potassico), che col colorire i germi solo quando sono vivi, avverte in pratica dei pericoli, che eventualmente da essi potrebbero derivare.

A questa Nota riassuntiva terrà dietro una dettagliata pubblicazione sull'argomento.

Patologia. — *Contributo sperimentale alla conoscenza della eredità nella infezione pneumococcica latente* ⁽¹⁾. Nota del dott. L. PANICHI, presentata dal Socio G. TIZZONI.

Stabilito per le mie ricerche ⁽²⁾ che durante l'infezione latente sperimentale lo pneumococco viene trasmesso dal padre al figlio; e confermato da me, come già precedenti osservatori avevano potuto constatare (durante l'infezione acuta, però) che uguale trasmissione batterica si verifica dalla madre al figlio; ne veniva qual conseguenza necessaria la ricerca della trasmissione ereditaria dell'immunità dai genitori vaccinati alla prole. A questo riguardo, *a priori*, si poteva pensare che i fatti osservabili fossero da riportarsi più ad un effetto della presenza del germe nel figlio, anziché ad un prodotto ereditario trasportato come tale dalla nascita; vale a dire che l'immunità invece di essere ereditaria, congenita, passiva, fosse acquisita e reattiva per una reazione del figlio di fronte al germe sopportato: o per lo meno che si verificassero tutte e due le forme di immunità, magari con la prevalenza dell'una o dell'altra.

Le osservazioni che ho potuto fare in proposito, per quanto non ancora complete, mi paiono meritevoli di essere ricordate già fino da ora, rilevando alcuni fatti che reputo degni di considerazione.

Per l'influenza tra genitori e prole dovevano essere considerate le seguenti combinazioni:

- 1° figlio nato da madre immune e padre normale;
- 2° figlio nato da madre normale e padre immune;
- 3° figlio nato da madre e padre immuni.

L'immunità poi nella prole doveva essere esaminata tanto per il potere di resistenza dimostrabile nel figlio per un'infezione procuratagli, quasi per ripetere una iniezione di prova, quanto per le proprietà antipneumoniche del

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nell'Istituto di Patologia generale di Bologna.

⁽²⁾ Panichi, V. questi Rendiconti pag. 107.

siero di sangue dello stesso figlio. Per questi ultimi saggi la ricerca doveva essere fatta sia sull'animale, cui venisse iniettato il siero ricavato dal figlio, sia in vitro.

Riferisco secondo l'ordine su esposto le osservazioni che posseggo.

A tre conigli nati il 10 dicembre 1904 da madre vaccinata e da padre normale, alla età di 4-5 mesi, dopo un regolare sviluppo (tranne che nei primi mesi l'accrescimento del peso corporeo si mantenne un po' al di sotto della norma; rappresentatami da quella osservabile in altri conigli ben nutriti, sebbene tutti egualmente trattati per cibo e condizione d'ambiente) si inietta sotto cute cc. 0,1 di virus Fiankel in brodo speciale, che uccide il controllo in 60^h.

I tre figli in questione muoiono fra le 20^h e le 36^h con le note anatomicopatologiche caratteristiche (emorragie nell'intestino, polmoni); solo uno dimostrò peritonite fibrinosa che può considerarsi come processo morboso attenuato, perchè rappresenta un certo grado di resistenza alla diffusione che il virus trovò nell'organismo; come avviene appunto per l'uomo, meno sensibile in paragone col coniglio al virus pneumococcico: fu appunto questo figlio che sopravvisse più degli altri (36^h).

Per la nessuna resistenza riferibile ad immunità congenita ereditata o ad azione dello pneumococco che i figli ospitavano dopo la nascita, non si tentano le prove in vitro e sull'animale col siero di sangue di questa prole. Ma per quanto il risultato sia negativo in tale esperienza, non può avere il suo giusto valore se non si considera la limitatissima immunità conferita alla madre, la quale prima della gravidanza che ci interessa aveva avuto solo virus pneumonico nella vaccinazione fondamentale e quasi 9 mesi prima dell'accoppiamento; per di più durante tale lungo periodo di tempo aveva già partorito altra volta e si sa quale perdita nell'immunità possa subire l'individuo per il fatto della gestazione e dell'allattamento.

Il siero infatti della stessa madre (separatosi da un saggio di sangue preso il 28 novembre 1904) iniettato in circolo ad un coniglio contemporaneamente ad una dose di virus che uccide il controllo in 12^h e nella proporzione dell'1‰ ne ritarda solo la morte fino alla 30^a ora.

Considerati questi fattori, se si giustifica la mancante immunità nella prole, si aggiunge ancora interesse alla circostanza che in siffatte condizioni abbia potuto effettuarsi il passaggio dello pneumococco dalla madre al figlio.

A riprova della importanza che ha il grado dell'immunità conferita ai genitori per gli effetti sulla prole, ci servono le osservazioni seguenti.

Un figlio nato da madre normale e padre immune e precisamente un figlio (grigio) di cui ho riferito nella seconda osservazione (1), sviluppato bene, al termine quasi del 5° mese di età (26 marzo 1905) riceve in circolo una

(1) V. Nota precedente.

dose di virus pneumonico che uccide il controllo in 43^b: ne ammalò con febbre, diarrea, con diminuzione di peso e ne muore in 69^b. Alla necropsopia macroscopicamente si trova, oltre il tumore di milza, emorragia nel connettivo retroperitoneale in vicinanza dei reni e dell'utero; coccidiosi antica del fegato e l'utero carico di giovani feti. Per queste due ultime condizioni, che devono aver senza dubbio contribuito a diminuire la resistenza della coniglia; per le limitate lesioni anatomopatologiche (almeno per quanto concede un giudizio su reperto macroscopico); per il ritardo nella morte verificatosi su quella del controllo sorgeva legittimo il sospetto che attenuando il virus si sarebbe potuta rendere più manifesta l'immunità, già apprezzabile in minimo grado nell'esperimento riferito, magari con grave malattia del soggetto in prova. In questa supposizione non si tralasciava, per altro, di considerare che il calcolo per quanto giustificabile poteva essere annullato dalle conseguenze di una ineguale trasmissione dell'eredità dai genitori alla prole.

Ecco quanto osservai in un altro figlio della medesima covata.

Ai 10 aprile 1905 si inietta sotto cute cc. 0,1 di virus Fränkel in brodo speciale che dà la morte del controllo in 60^b. Il figlio giovane di 5 mesi circa, dal mantello bianco, *risente elevazione di temperatura* già dopo 12^b, che raggiunge successivamente al quarto giorno 41° e torna normale al settimo di: *comincia a presentare* infiltrazione locale al terzo giorno con accrescimento del processo essudativo fino alla formazione di una massa coetennosa su tutto il treno posteriore (l'iniezione fu fatta sul dorso); *diminuisce progressivamente* nel peso fino a perderne quasi un quinto. Dopo questa grave malattia, durata per più di venti giorni, l'animale riacquista in peso e vivacità, tornando nello stato di salute.

Il terzo figlio, grigio, della stessa covata, sopravvive all'infezione per tre giorni e mezzo: mentre il controllo muore in 66^b.

Non viene provata la resistenza del quarto figlio, nero, perchè rimane incinta per opera di un fratello e partorisce due piccoli.

Lo stesso coniglio padre che ha trasmesso una certa resistenza ai figli, di cui si è fatto ora ricordo, accoppiato di nuovo con altra coniglia normale, (osserv. III v. Nota I) quando erano trascorsi 5 mesi dall'ultima iniezione vaccinante (mentre all'epoca del primo accoppiamento [osserv. II v. Nota I] n'era trascorso poco più di uno) genera dei figli i quali anche in tempo non lontano dalla nascita (a 4 mesi di età) non resistono alla iniezione di prova e muoiono in 20^b-36^b per virus deposto nel sottocutaneo quando il controllo muore in 66^b. Aggiungo subito che il padre mentre, prima di aver generato i figli i quali dimostrarono una certa resistenza ereditaria, forniva un siero capace di salvare kg. 1 di coniglio alla dose di cc. 0,5 %/o contro virus rapidamente mortale; invece, dopo la procreazione dei figli i quali dimostrarono maggiore ricettività per il virus pneumococcico, dava un siero che pure alla

dose di cc. 1‰ ritardava solo di 3 giorni la morte del coniglio su controllo morto in 14^h.

Con questi fatti ultimi riferiti viene provato il rapporto diretto fra immunità posseduta dal genitore e quella trasmessa ai figli; e viene pure luminosamente dimostrato che anche un soggetto il quale ha raggiunto un elevato grado di immunizzazione la perde coll'andare del tempo se viene abbandonato a se stesso, senza sopportare ulteriori iniezioni di virus.

I dati riferiti dimostrano che se non viene conferita dal padre al figlio attraverso la madre normale una vera immunità quale si richiede per le prove di laboratorio, si trasmette almeno un certo grado di resistenza, che può avere altissimo significato pratico quando si consideri che in condizioni naturali la malattia è prodotta da quantità piccole di virus, incomparabilmente più piccole e meno attive di quelle che noi usiamo nei nostri esperimenti.

Non mi intrattengo per ora su osservazioni raccolte intorno alla resistenza di figli nati da genitori entrambi immuni, perchè non sono decisive, disponendo di conigli a debole vaccinazione; e per la stessa ragione tralascio quelle che riguardano l'immunità passiva, diretta, per trasfusione conferibile ad altro animale con siero di figli procreati da genitori aventi lo pneumococco in circolo.

Le attività biologiche che può acquistare il siero di sangue di un animale per vaccinazione accidentale o artificiale, oltre al potere antitossico, si riferiscono alla capacità di *agglutinare* i germi stessi che servirono per il trattamento del soggetto fornitore del siero, alla capacità di *produrre precipitati* nel liquido di coltura residuante dopo la filtrazione della coltura stessa attraverso candela.

Le attività biologiche che può acquistare il siero di sangue di un animale per vaccinazione accidentale o artificiale, oltre al potere antitossico, si riferiscono alla capacità di *agglutinare* i germi stessi che servirono per il trattamento del soggetto fornitore del siero, alla capacità di *produrre precipitati* nel liquido di coltura residuante dopo la filtrazione della coltura stessa attraverso candela.

Nel presente studio, prima di ricercare questi poteri nel siero di sangue della prole volli accertarmi se il siero dei singoli genitori dimostrasse e in quale grado proprietà agglutinanti e precipitanti: la ricerca, pure nei valori minimi, ne fu negativa.

Ciò non ostante poteva sospettarsi ancora che nel figlio fosse rinvenibile il fenomeno non più per effetto ereditario, ma per attività propria in seguito alla presenza dello pneumococco nel suo organismo. Ma per quanto mi sia servito di materiale avuto dai figli più o meno giovani, per quanto abbia limitato la scala delle diluizioni, restringendo i rapporti di questa fino a 1:1, non ho notato mai la comparsa dell'agglutinazione sia che si esaminasse il fenomeno su coltura nascente sia su coltura già sviluppata. Egualmente negativa, a parità di ogni condizione nella esperienza, fu la ricerca delle precipitine. Mancò ogni risultato per queste prove in vitro tanto coi figli di madre o di padre immuni, quanto con quelli procreati da genitori entrambi immuni. Ora, sebbene limitato, un potere antitossico fu

messo in evidenza tanto per il siero della prole quanto per quello dei singoli genitori: quindi risulta un disaccordo tra la capacità di agglutinare i germi, di precipitare le sostanze del filtrato colturale e di neutralizzare in vivo la coltura.

Ma pel disaccordo che può esistere fra questi diversi poteri spero di riferire presto in un lavoro compiuto in collaborazione col prof. Tizzoni: intanto è già noto per le ricerche di Staübli (1) che nella vaccinazione delle cavie con il germe del tifo si verifica eguale disaccordo fra grado di contenuto in agglutinine e quantità di batteri iniettati.

Per i fatti da me or ora riferiti si deve ritenere, infine, che se il microbio trasmesso dai genitori al figlio non determina per la sua presenza in questo la produzione di proprietà agglutinanti e precipitanti, non sarà nemmeno capace di fare acquistare al siero della prole qualsiasi attività antitossica, di cui per altro la prole ha dimostrato di poter disporre; e che quindi il potere antitossico posseduto dal figlio è ereditato dai genitori.

* *

Esposto quanto ho fino ad oggi osservato, le mie esperienze mi autorizzano ad affermare nel modo più assoluto che per l'eredità riguardante lo pneumococco latente nel coniglio:

1° la trasmissione del germe avviene dalla madre al figlio non solo, ma pure dal padre alla prole;

2° il padre trasmette al figlio un certo grado di resistenza;

3° tale grado di resistenza sta in rapporto diretto col grado di immunità posseduto dal genitore;

4° il figlio non possiede potere agglutinante, precipitante nel suo sangue, pur avendo il germe nel circolo sanguigno o quanto meno nel suo organismo.

* *

Nello stato attuale delle mie ricerche non entro nella discussione che sorgerebbe per il raffronto dei miei risultati con quelli ottenuti da altri, abbiano essi considerato l'eredità materna o paterna (2), e con le teorie dominanti sull'eredità in genere di Weisman e di Darwin. Vi tornerò sopra quando

(1) Staübli C., *Ueber die Bildung der Typhusagglutinine und deren Uebergang von der Mutter auf die Descendenten*, Centralbl. f. Bakt. Bd. 36, 1904.

(2) Tizzoni e Centanni (*La trasmissione ereditaria da padre a figlio dell'immunità contro la rabbia*, Riforma medica, n. 9, 1893) fin dal 1893 riscontrarono « che il padre mediante lo sperma può trasmettere ai figli l'immunità acquisita contro la rabbia »: altrettanto constatarono Gley e Charrin (*Influences héréditaires expérimentales*, Ref. Baumgarten's Jahrb. 1893, pag. 286) contro il bac. piociano.

saranno a mia disposizione altre ricerche a cui mi obbligano *la circostanza* favorevole di poter spingere gli animali ad un'immunità elevata contro lo pneumococco e *l'importanza* dell'argomento.

Questo, per quanto trattato dallo Ziegler⁽¹⁾ fin dal 1886, per quanto dall' Ehrlich⁽²⁾ e da altri abbia avuto illustrazione con fatti di grande importanza, pure rimane campo sempre aperto a interessanti indagini anche per argomenti già in parte investigati, come lo provano le ricerche recenti del Lustig⁽³⁾ sull'abrina già presa in esame dallo stesso Ehrlich: per lo pneumococco è poi campo inesplorato.

* * *

Compiuta l'esposizione dei fatti da me raccolti fino ad ora sull'eredità pneumococcica nei conigli non posso trascurare di riferire alcune notizie sulla biologia del germe ripreso dal sangue dei figli.

Il microbio fu ricercato aspirando dalla vena marginale dell'orecchio, previo lavaggio della parte con benzina ed alcool, piccola quantità di sangue; quantità talora rappresentata solo da qualche goccia appena, sia perchè lo sviluppo dei germi, come si notò altrove⁽⁴⁾ quasi si avvantaggia delle piccole anzichè delle grandi quantità di sangue, sia perchè talora la manovra riesce difficile in rapporto alla esigua ampiezza del lume vasale nei giovani conigli (a 15 giorni di età).

La ricerca così precoce del germe era determinata da due circostanze; secondo l'una delle quali appariva evidente la facilità maggiore di aver positiva la coltura quanto più giovane era l'età del figlio, secondo l'altra mi proponeva di ovviare all'obiezione sollevabile da quelli i quali avrebbero volentieri ammesso che lo pneumococco si ritrovasse nel figlio non perchè trasportato dalla nascita e acquistato durante la gestazione, ma perchè incorporato magari prestissimo dopo la nascita a causa di una predisposizione ereditaria per esserne attaccati o a causa del latte ingerito, che nelle coniglie immuni (come ho potuto anche io verificare) trasporta lo pneumococco. Sempre per ovviare a queste obiezioni dirò che ho spinto l'indagine più in là

(1) Ziegler E. *Können erworbene pathologische Eigenschaften vererbt werden und wie entstehen erbliche Krankheiten und Missbildungen.* Beiträge z. path. Anat. und Physiol. Bd I, 1886.

(2) Ehrlich P., *Ueber Immunität durch Vererbung und Säugung,* Zeitsch. f. Hyg. und Infect. Bd. XII, n. 2, 1892.

(3) Lustig A., *L'immunità acquisita contro i veleni può essere trasmessa dai genitori alla prole?* Rend. della R. Accad. dei Lincei, 1° sem. 1904, vol. XIII, fasc. 2°.

(4) Tizzoni e Panichi, *Sulla distruzione dello pneumococco del Fränkel nel sangue degli animali immunizzati e ipervaccinati.* Memorie della R. Accad. delle Scienze dell'Istituto di Bologna, t. I, 1904.

ancora dei primi giorni di vita della prole, riportandomi alla vita intrauterina: in una coniglia immune, rimasta fecondata da un maschio pur esso immune, negli ultimi tempi della gestazione venne praticata l'isterectomia addominale totale e i feti (che non respiravano ancora), tolti dall'utero aperto, furono lavati con abbondante acqua per allontanare le minime tracce del sangue materno. Così accuratamente detersa la superficie esterna, con ogni cautela di asepsi si asportò il cuore del feto e si mise in coltura in brodo al termostato: ebbene anche in questo caso si ebbe lo sviluppo dello pneumococco, già dopo 24 ore di permanenza nella stufa.

Eguualmente positiva riuscì la coltura del germe ripreso dai feti estratti dall'utero di una coniglia normale fecondata da maschio immune.

La vegetazione del germe ripreso dai figli non fu sempre egualmente rapida, ma talora ritardò di 2-3-7 e più giorni: in genere il lento moltiplicarsi del microbio a me parve stesse in rapporto diretto colla età più avanzata del figlio e colla quantità maggiore del sangue messo in coltura; contrariamente a quanto si dice dal Roger⁽¹⁾.

L'aspetto del germe sviluppato fu diverso nei singoli casi, senza che me ne sia stato possibile sorprendere le cause, e in accordo con quanto fu riferito sullo pneumococco circolare latente e a lungo nel sangue degli animali immunizzati⁽²⁾: ora rigonfio, e quasi cocciforme, ora colle apparenze di gonococco; spesso a gruppi, più raramente a catene corte e lunghe. Pur variando così l'apparenza in qualche presa lo sviluppo del microbio corrispose a quello normale, con le tipiche forme a fiamma di candela; le quali per altro non mancarono mai anche nei casi in cui predominavano le varietà morfologiche sopra ricordate.

Queste d'altra parte vanno mano mano riducendosi in numero col progressivo rinforzo del germe fatto sviluppare sempre su nuovi terreni nutritivi o meglio fatto circolare in diversi animali (conigli). Nei primi di questi coll'aumento delle forme microbiche caratteristiche segue la comparsa di lunghe catene, occupanti magari più campi di microscopio e aggrovigliate; nei successivi passaggi sulle lunghe catene predominano le corte e infine prevalgono le coppie dalla forma speciale, fra cui gli elementi ancora rotondeggianti rappresentano l'eccezione.

Per rivirulentare il germe mi sono servito del topo (*mus musculus albinus*) e del coniglio: feci ricorso a quello per risparmio di materiale infettante più che per affrettare il conseguimento dello scopo nella considerazione che il topo, essendo più sensibile allo pneumococco, meglio corrispondesse per ridare virulenza al microbio. In questa pratica ho trovato giuste le osser-

(1) Roger G. H., *Les maladies infectieuses*, II, pag. 1218.

(2) Tizzoni e Panichi, l. c.

vazioni del Foà (1) il quale fin dal 1893 notò che lo pneumococco non si rivirulenta attraverso il topo più presto che nel coniglio, ed è ugualmente giusto che più attiva riesca l'iniezione nel cavo addominale o pleurico piuttostochè nel sottocutaneo. Mi sono servito del coniglio per riprodurre il quadro anatomopatologico dell'infezione pneumococcica dall'essudato (giacchè io ho adoprato sempre la varietà edematogena) in loco alle emorragie degli organi interni.

A proposito poi del topo devo ricordare che iniettando la coltura indicabile come matrice (sangue ripreso dal figlio, e messo in brodo di composizione ordinaria) si ha la morte dell'animale con setticemia, ma con germi ancora in maggior numero tondeggianti e rigonfi.

Il potere patogeno di questa matrice è molto limitato: ne occorrono cc. 1-2 per produrre la morte del topolino in 6 giorni, circa.

Dall'animale appena morto asportava, colle maggiori cautele d'asepsi, il cuore e lo metteva in cc. 5-6 di brodo; quando poi la vegetazione del microbio era avvenuta mi serviva della stessa coltura per ripetere l'infezione in un altro soggetto: bastavano 2-3 passaggi in topo per avere la morte di questo in 12^h. Passando dal topo al coniglio si deve ripercorrere la stessa strada, vale a dire anche la coltura avuta dall'ultimo topo morto rapidamente non è capace di uccidere il coniglio di kg. 1 circa se non dopo qualche giorno (3-5-7 quando ne venga usata la quantità di c. c. 3-5-1 in brodo): si fa più presto se si adopera la coltura in sangue defibrinato di coniglio anzichè in brodo ordinario.

Le proprietà biologiche del germe appena ripreso dalla prole sono diverse da quelle che lo stesso germe dimostra quando ha riacquisito l'originaria virulenza; e per meglio riferirle le riporto nella tabella comparativa seguente, in modo sommario:

Germe
virulentato.

Germe attenuato
ripreso dalla prole.

Agar.

Nasce con difficoltà e solo dopo 3 giorni con scarse colonie come goccioline piccolissime di rugiada, trasparenti, meglio distinguibili a luce diretta che alla riflessa: rotonde a margini netti, rifrangenti la luce, granulose.

Nasce dopo 24^h con colonie abbondanti, per lo più rotonde, talora confluenti in modo da formare patina lattescente, grigiasta a luce diretta, lattiginosa a luce riflessa.

(1) Foà P., *Sulla infezione da diplococco lanceolato*. Archivio delle scienze mediche, vol. XVIII, 1893, pag. 384.

Gelatina.

Non nasce nemmeno dopo un mese.

Nasce con ritardo di 15-20 giorni con colonie più abbondanti in superficie e meno in profondità in modo da formare come un imbuto; rotondeggianti, granulose.

Latte.

Coagula dopo 48^h.

Non coagula nemmeno dopo 23 giorni dall'innesto.

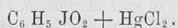
In breve, il germe della prole, dopo rivirulentato, si comporta come il campione che serve da anni per preparare le colture più attive nelle ricerche di laboratorio.

Chimica. — *Di alcuni sali doppi che i derivati jodilici* ⁽¹⁾ *formano col cloruro e col bromuro di mercurio* ⁽²⁾. Nota di L. MASCARELLI, presentata dal Socio G. CIAMICIAN.

Molti sali doppi tra sostanze organiche ed i sali alogenati del mercurio furono descritti da vari autori, anzi recentemente alcuni hanno anche cercato di dare una spiegazione del fenomeno.

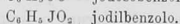
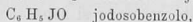
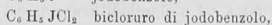
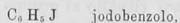
Qui riporto i primi risultati di alcune ricerche da me fatte nel gruppo dei derivati jodilici.

I sali su cui intendo riferire sono sali doppi del tipo



Questi sali si ottengono per diverse vie e cioè: a) sciogliendo a caldo in acqua il rispettivo jodilderivato e poi aggiungendovi il cloruro od il bro-

(1) Dovendo parlare in questa Nota di alcuni derivati jodurati aromatici, osservo come la nomenclatura da me adottata nei singoli casi sia la seguente:



Il nome di derivati jodilici o jodilderivati è stato proposto da Ortoleva (Gazz. chim. ital. 1900, II, 1), e mi sembra opportuno.

(2) Lavoro eseguito nel Laboratorio di Chimica generale nella R. Università di Bologna.